

**Untersuchungen zur Wirkung eines
Suppressors der squamosa - Mutante
von Antirrhinum majus L.**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktor - Würde
im Fachbereich Biologie (23)
der FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN

vorgelegt von
Ursula BERNHARDT
Würzburg

1977

**Untersuchungen zur Wirkung eines
Suppressors der squamosa - Mutante
von Antirrhinum majus L.**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktor - Würde
im Fachbereich Biologie (23)
der FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN

vorgelegt von
Ursula BERNHARDT
Würzburg

Vorlesungen zur Wirkung eines
Zusatzes des sekundären Minerals
von Rammberg 1975

Lehrstuhl für
den Vergleich der Dialekte
im Fachbereich Germanistik
der Freien Universität Berlin



1. Referent: Prof. Dr. Gertrud LINNERT
2. Referent: Prof. Dr. Werner ODENBACH

Tag der mündlichen Prüfung: 1. April 1977

Lehrstuhl für
Germanistik
Freie Universität Berlin

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. MATERIAL und METHODEN	6
2.1. Material	6
2.2. Methoden	7
2.2.1. Sprühversuche zur Untersuchung der Phänokopierbarkeit	7
2.2.2. Auxin-Oxidase-Bestimmung	8
2.2.3. Quantitative Bestimmung des Wuchsstoffgehaltes	10
2.2.3.1. Extraktion	10
2.2.3.2. Dünnschichtchromatographie	11
2.2.3.3. Weizenkoleoptiltest	12
2.2.3.4. Gaschromatographie	13
2.2.3.5. Statistische Auswertung	14
3. VERSUCHSERGEBNISSE	
3.1. Sprühversuche zur Untersuchung der Phänokopierbarkeit	15
3.1.1. Beschreibung der aufgetretenen Phänokopien	15
3.1.1.1. Gibberellin	15
3.1.1.2. ß-Indolylessigsäure + Chlor- cholinchlorid (IAA + CCC)	16
3.1.1.3. ß-Indolylessigsäure + Indolyl- acetonitril (IAA + IAN)	18
3.1.1.4. Kinetin	19
3.1.2. Statistische Auswertung der Sprühversuche	20
3.1.2.1. Behandlung phänotypisch normaler und squamosa-Pflanzen mit IAA + CCC	20

	Seite	
3.1.2.2.	Behandlung phänotypisch normaler Pflanzen der Linie A mit IAA + CCC, IAA + IAN bzw. Kinetin	22
3.1.2.3.	Behandlung phänotypisch normaler und squamosa Pflanzen der Linien 214, B und C mit IAA + CCC, IAA + IAN bzw. Kinetin	24
3.1.2.4.	Varianzanalyse	29
3.2.	Auxin-Oxidase-Bestimmung	31
3.3.	Quantitative Bestimmung des Wuchsstoffgehaltes	33
3.3.1.	Analyse der Wachstumsaktivitäten der Extrakte aus der Normalform und der Mutante squamosa im Weizenkoleoptilttest und ihre Lokalisation auf den Chromatogrammen	33
3.3.2.	Analyse der Wachstumsaktivitäten der Extrakte aus der Normalform, der Mutante squamosa und der supprimierten Mutante nach dünn-schichtchromatographischer Auftrennung der sauren und der neutralen Fraktionen	38
3.3.3.	Gaschromatographie	42
4.	DISKUSSION	45
5.	ZUSAMMENFASSUNG	54
6.	LITERATUR	56

1. EINLEITUNG

Antirrhinum majus L. ist ein genetisch gut untersuchtes Objekt. Etwa 400 Mutanten wurden von STUBBE (1966) beschrieben. Unter ihnen befinden sich einige, die die Infloreszenzen verändern. Die Mutante *squamosa* (squa), von BAUR 1930 erstmals erwähnt, zeigt als Charakteristikum eine Vergrünung der Seitenknospen; die Infloreszenzen sind gestreckt, z. T. stark verzweigt und tragen schuppenförmige Hochblätter. Gegen Ende der Vegetationsperiode kommt es zur Ausbildung mißgestalteter Blüten. Die Deformierung ist in ihrer Expressivität variabel und reicht von fast normalen Blüten bis hin zu Blüten, die denen der Mutante *fimbriata* ähneln. Durch Reduktion von Staubblättern und / oder Samenanlagen sind sie mehr oder weniger steril. Daneben treten aber auch normale Blüten auf, die Samen liefern und die Weiterzucht der Mutante homozygot erlauben (BAUR 1930, 1932, KUCKUCK und SCHICK 1930, SCHICK 1933, STUBBE 1935, 1966, KUTSCHER 1935, LINNERT 1967). Diese Form der Blütenmißbildung ist nicht nur für die *squamosa* Mutante typisch. Die Mutante *sterilis* (ste) zeigt das gleiche Phänomen; gegen Ende der Vegetationsperiode kommt es auch bei ihr zur Ausbildung $\pm$ normaler Blüten. Ihre ebenfalls mit schuppenartigen Hochblättern besetzten Infloreszenzen sind jedoch immer sehr lang, auch bei einer Verzweigung behält die Mutante *sterilis* meist die schlanke Gartenform, die den starren Habitus bestimmt (BAUR 1910, 1918, 1924 Faktor h, KUCKUCK und SCHICK 1930, STEIN 1939, 1940, BERGFELD 1956, 1958, 1960). Beide Mutanten sind erst zu erkennen, wenn sie ihre Infloreszenzen ausgebildet haben. Durch die unregelmäßige Expressivität des Mutantenmerkmals ist bei einzelnen Individuen die Zuordnung zu dem einen oder anderen Typus zuweilen erschwert. Auch STUBBE (1966) weist bei der Beschreibung der Mutante *squamosa* auf die Ähnlichkeit der Blütendeformation mit *sterilis* hin. Er vermutet für den

sterilis-Locus multiple Allele, die sich in ihrer Neigung, Blüten zu bilden, unterscheiden. Nach KUCKUCK und SCHICK (1930) ist noch nicht untersucht worden, ob die Faktoren *squa* und *ste* genetisch identisch sind. Auch LINNERT (1967) hat noch keine Kreuzungen zur Bestimmung der Allelie an der *squamosa* Mutante durchgeführt. Die Genwirkung besteht offenbar für beide Mutanten in einer nicht immer vollständigen Umschaltung der Blühinduktion; deshalb könnte man vermuten, daß die primäre Wirkung des mutierten Gens einen Wuchsstoff betrifft.

Die Beteiligung der Phytohormone an dem komplexen Vorgang der Blühinduktion ist insofern von Interesse, als ein Zuviel an wachstumsfördernden Hormonen die Umschaltung von der vegetativen in die generative Phase bei der *squamosa*-Mutante beeinträchtigen könnte. Den Auxinen, deren auffallendster Effekt die Stimulation des Streckungswachstums von Sprossen (WENDT 1926, PILET 1961 b, KARLSON 1967, LIBBERT 1973) ist, kommt daher besondere Bedeutung zu. Das natürliche Auxin ist die β -Indolyllessigsäure (IAA); andere biogene Indolderivate sind Auxinvorstufen und können von der Pflanze in IAA umgewandelt werden (RAJAGOPAL and LARSEN 1972). Der Abbau der IAA erfolgt durch die Auxin-Oxidase (PILET 1957), die die vorhandene Auxinkonzentration und dadurch die Wachstums- und Entwicklungsprozesse kontrolliert. Die stationäre Konzentration (MOHR 1969) der IAA ist somit abhängig von der Regulation des Gleichgewichts zwischen der Intensität der IAA-Synthese und der Intensität des enzymatischen Abbaus. Hoher IAA-Gehalt in einer Pflanze könnte demzufolge einerseits mit geringer IAA-Oxidase Aktivität korreliert sein, zum anderen durch seine wachstumsstimulierende Wirkung die generative Entwicklung negativ beeinflussen, d. h. die Blütenbildung unterdrücken. BERGFELD (1960) betont, daß sowohl bei *Antirrhinum siculum sterilis* als auch

bei *Antirrhinum majus sterilis* mit der Hemmung der Blütenbildung ein anormal hoher Wuchsstoffgehalt einhergeht und vermutet einen korrelativen Zusammenhang. In der Tat deuten die Ergebnisse seiner Versuche darauf hin, daß die *sterilis*-Mutante von *Antirrhinum majus* einen Überschuß an Wuchsstoffen enthält, die nach seiner Meinung IAA und IAN sein könnten. Vielleicht trifft das auch für die *squamosa*-Mutante zu, die das gleiche Blütenbildungsphänomen aufweist.

LINNERT zeigte (1967, 1968), daß die von ihr genetisch untersuchte *squamosa*-Linie gleichzeitig einen Suppressor (*sup*) und einen Letalfaktor enthält, die beide mit *squamosa* gekoppelt sind und bewirken, daß *squa/squa*-Homozygote in wechselnden Zahlenverhältnissen phänotypisch normale Pflanzen abspalten. *Squamosa*, der Suppressor und der erwähnte Letalfaktor liegen in dem Chromosom Nr. 6 (LINNERT unveröffentlicht), das von STUBBE (1966) als Kopplungsgruppe *Def* bezeichnet wird; zu dieser gehört auch *sterilis*. Kürzlich stellte LINNERT (unveröffentlicht) fest, daß in einer ihrer *squamosa*-Linien phänotypisch normale Pflanzen als Folge einer Rückmutation am *squamosa*-Locus aufgetreten sind. Damit ergibt sich die Frage nach der Natur der Reversion.

Betrachten wir die Möglichkeit der Reversion einer Mutation, so liegt sie für die klassische Rückmutation im intragenischen Bereich, während sich die Supprimierung meist extragenisch (KAPLAN 1968) vollzieht. Missense-Mutationen, die durch Basensubstitution zur Codierung einer falschen Aminosäure führen, können rückmutieren durch erneute Basensubstitution, die die Codierung der ursprünglichen Aminosäure zur Folge hat. Dabei spielt es keine Rolle, ob die Wirkung der Missense-Mutation durch Aminosäuresubstitution zur Veränderung der Enzymstruktur und dadurch zur Inaktivierung

des Enzyms führte oder ob infolge der Degeneration des genetischen Codes kein Effekt möglich war. Die Ursache von Frameshift-mutationen hingegen ist in einer Rasterveränderung durch Ein- oder Ausschub einzelner Nukleotide zu sehen (KAPLAN 1968, KNIPPERS 1971), die bestenfalls eine Synthese sinnloser Proteine ergibt. Hier kann durch Subtraktion oder Addition einzelner Nukleotide eine Aufhebung der Rasterverschiebung erfolgen. Sowohl die Reversion der Missense-Mutationen als auch die der Frameshift-Mutationen sind Rückmutationen im Sinne der klassischen Genetik. Anders verhält es sich mit der Reparatur von Nonsense-Mutationen. Nonsense-Mutationen verursachen durch Basensubstitution eine frühzeitige Terminalisation der Polypeptidkette (GAREN 1968, KNIPPERS 1971), was ein in der Regel inaktives Peptidfragment zur Folge hat (BENZER and CHAMPE 1962); die Reversionsmöglichkeit der Nonsense-Mutationen ist die Supprimierung (GAREN 1968). Durch mutative Veränderungen entstehen tRNA-Moleküle, die an der Stelle der Terminalisierungstriplets eine "richtige" Aminosäure in das Polypeptid einbauen (ROMAN et al. 1967, SCHIMMER and ARNOLD 1970). Allen diesen Möglichkeiten der Reversion ist gemeinsam, daß die erneute Mutation sich innerhalb des normalen Syntheseweges ereignet. Um die Eröffnung eines anderen Syntheseweges handelt es sich, wenn die zweite Mutation in einem Gen entsteht, dessen mutiertes Produkt einen alternativen Weg des gestörten Metabolismus eröffnet (KAKAR 1963). Die zweite Mutation kann in einem Gen auftreten, dessen mutativ verändertes Produkt die Funktion des ersten Genproduktes zu ersetzen vermag durch eine Änderung der Reaktionsspezifität. Es ist aber auch durch eine zweite Mutation die Erweiterung der Substratspezifität eines zweiten Enzyms möglich, die die Blockierung des ersten Syntheseweges aufhebt (WHITEHOUSE 1969). Schließlich kann die zweite Mutation cytoplasmatische Bedingungen schaffen, die das fertige Produkt der ersten Mutation beeinflussen, mit anderen Worten: das cytoplasmatische

Milieu kann ein Enzym stabilisieren, das gemäß einer strukturellen Veränderung im Wildtypcytoplasma instabil ist (BRACHET and MIRSKY 1964). Alle diese Möglichkeiten können für die Supprimierung der squa-Wirkung zutreffen. Weil nach LINNERT (1967) "kaum etwas darüber bekannt ist, ob den Suppressorgen eine grundsätzliche Rolle im Genwirkungsmuster eines Organismus zukommt", dürfen die Möglichkeiten der Eröffnung eines neuen Pathways, in dem die Supprimierung genwirkungsspezifisch auftritt, bei einer Untersuchung einer Suppressorwirkung an der squamosa-Mutante von *Antirrhinum majus* nicht außer acht gelassen werden, zumal in der Sippe 50, in der die Mutation aufgetreten ist, auch ein Suppressor gefunden wurde (LINNERT 1968), der diese Mutante mehr oder weniger normalisiert.

Ziel dieser Arbeit ist es festzustellen, ob durch Zugabe von Wachstumsregulatoren die Wirkung von Suppressorgen bei *Antirrhinum majus* phänokopiert werden kann und ob aus der Analyse des Wuchsstoffmusters der drei genetisch unterschiedlichen Gruppen - 1. Normale, 2. Mutanten und 3. supprimierte Mutanten - durch dünnschichtchromatographische Untersuchungen und biologische Testverfahren Rückschlüsse gezogen werden können auf den Mechanismus von Suppressorgen bei *Antirrhinum majus*.

2. MATERIAL und METHODEN

2.1. Material

Die Untersuchungen wurden vorgenommen an Pflanzen der von BAUR (1924) beschriebenen Sippe 50 von *Antirrhinum majus*, die von LINNERT als Sippe 50 Berlin weitergeführt wird. Die Sippe 50

wurde in ständiger Inzucht gehalten und seither in verschiedener Richtung genetisch bearbeitet. Als Ausgangsmaterial für die vorliegende Arbeit dienten Nachkommen aus *squa/squa*-Homozygoten, die nach Röntgenbestrahlung aufgetreten waren (LINNERT 1966) und in denen LINNERT (1967) einen rezessiven Suppressor (*sup*) nachgewiesen hatte. In diesen Linien traten dann neben den *squamosa*-Mutanten einzelne normale Pflanzen auf, unter denen ein Teil homozygot für einen *squamosa*-Suppressor war.

Für die Sprühversuche wurden nun die *squamosa*-Pflanzen und auch die abgespaltenen homozygot rezessiven, also supprimierten, normalen Pflanzen vegetativ vermehrt. Die Behandelten in den Sprühversuchen waren ein von der *squa/squa*-Linie E 42 abstammendes Genotypengemisch (Linie 192, 212, 214 und A bis F), bestehend aus *squa/squa* und *squa +/squa sup*, aber auch *squa/+* (revertiert). Wie sich später zeigte, verhielten sich die normalen Abkömmlinge der Linie A dominant, so daß anzunehmen ist, daß diese Pflanzen als *squa/+* (revertiert) anzusehen sind (vermutlich Rückmutation; LINNERT, unveröffentlicht). Die normalen Abkömmlinge der Linie A dürften also heterozygot für *squa* gewesen sein, denn in dieser Linie spaltete normal dominant über *squa*, während es sich bei den phänotypisch Normalen der übrigen Linien (192, 212, 214 und B bis F) um suppressierte *squamosa*-Pflanzen gehandelt haben dürfte. Als Kontrolle dienten Stecklinge einer normalen, isogenen Linie der Sippe 50 Berlin. Die Bonitierung bei den Sprühversuchen - alle durchgeführt im Gewächshaus - wurde erschwert durch wechselnde Expressivität des Faktors *squamosa*.

Für die Bestimmung der IAA-Oxidase-Aktivität, die chromatographischen Untersuchungen und den Weizenkoleoptiltest wurden im

Sommer 1969 Pflanzen im Freiland aus Stecklingen aufgezogen, die ebenfalls aus der bereits genannten squa-Linie hervorgegangen waren und offensichtlich den Suppressor homozygot enthielten. Außerdem wurden squamosa-Pflanzen und normale Pflanzen, die aus einer Inzuchtlinie gleicher Abstammung wie die squa-Mutante resultierten, im Freiland aus Samen herangezogen. Von 843 squa sup/squa sup Pflanzen wurde die Spitzenregion getrennt geerntet; die gleiche Menge Material wurde vom apikalen Ende der squa/squa und der +/+ eingebracht. Alle Proben wurden sofort in Trockeneis aufbewahrt bis zur kurze Zeit darauf folgenden Gefriertrocknung bei -40°C . Zur weiteren Verarbeitung wurde das Material homogenisiert.

2.2. Methoden

2.2.1. Sprühveruche zur Untersuchung der Phänokopierbarkeit

Junge Stecklinge wurden durch Besprühen mit wässrigen Lösungen folgender Wuchsstoffe in den angegebenen Konzentrationen (nach KESSLER, unveröffentlicht) behandelt

1.) Gibberellinsäure	0,01	%
2.) β -Indolylessigsäure (IAA)	0,1	%
Chlorcholinchlorid (CCC)	1,6	%
3.) β -Indolylessigsäure (IAA)	0,1	%
Indolylacetonitril (IAN)	0,005	%
4.) Kinetin=6-Furfuryl-aminopurin	0,01	%

Die Behandlung erfolgte in einer Versuchsreihe vor Anlage der Infloreszenzen, in einer anderen zu dem Zeitpunkt, an dem bei den Kontrollen der Blühbeginn lag. In jede Behandlungsart wurde je ein Steckling von jeder Mutterpflanze einbezogen. Die Pflanzen wurden in regelmäßigen Abständen im Verlauf von 38 Tagen elfmal besprüht. In der Versuchsreihe mit Gibberellinsäure (das Besprühen fand hier nur bei Anlage der Infloreszenzen statt) wurde die Behandlung mit dieser Substanz nach 14 Tagen beendet und alle Pflanzen auf etwa 8 cm

zurückgeschnitten. Die Hälfte der zurückgeschnittenen Pflanzen wurde 6 x mit Kinetin besprüht, die restlichen Pflanzen blieben bis zum Ende der Versuchszeit unbehandelt. Die Versuche wurden in der Zeit Juni/Juli 1968 durchgeführt. Bonitiert wurden Triebblänge, Blütenzahl und Anzahl der Seitentriebe; die letzte Bonitierung erfolgte Anfang Oktober.

2.2.2. Auxin-Oxidase-Bestimmung

Zur Bestimmung der Auxin-Oxidase-Aktivität wurde zunächst ein Extrakt hergestellt aus dem lyophilisierten, homogenisierten Material nach der abgewandelten Methode von PILET, ZRYD et LAVANCHY (1967) und PILET et LAVANCHY (1969). 0,5 g des Materials wurden mit 5 ml folgenden Puffers versetzt:

0,24	g	Natriummetabisulfit,
1,00	g	Saccharose und
2,92	g	NaCl in
50	ml	TRIS-EDTA-Puffer ^{x)} +
0,04	ml	Merkaptoäthanol

und in einem Spezialmörser mit 1/2 Vol. Glaskugeln Ø 0,35 mm + 1/2 Vol. Glaskugeln Ø 0,50 mm während 3 min bei maximaler Geschwindigkeit und 3°C homogenisiert. Anschließend wurde das Material in einem Tropfbehälter mit 10 ml Puffer ausgewaschen und 7 min bei 10 000 g zentrifugiert. Dem Extrakt wurde eine 5%ige CaCl₂-Lösung zugegeben im Verhältnis von 10 : 1,5 und das Ganze während 30 min bei 3°C mit 40 000 g zentrifugiert. Zu je 10 ml des abgegossenen Überstandes wurden je 3 g Sephadex G₂₅ coarse hinzugefügt und nochmals 30 min zentrifugiert. Aus dem erhaltenen Extrakt wurde eine 0,5 %ige Saccharose-Mischung hergestellt und durch ein Filter mit der Porenweite von 0,22 µ (Millipore Corporation) gegeben. Anschließend erfolgte die Elution über einer Sephadex G₂₅ Säule

^{x)} TRIS-EDTA-Puffer: 60,5 g TRIS Hydroximethylaminomethan und 18,4 g Äthylendiamintetraessigsäure in 500 ml aqua bidest. aufgelöst, mit konz. Salzsäure auf pH 9,0 eingestellt, mit aqua bidest. auf 1000 ml aufgefüllt.

mit einem Borax-Phosphat-Puffer (19,1 g Borax/13,6 g KH_2PO_4 /1000 ml), eingestellt auf pH 8,1.

Der gereinigte Extrakt wurde der IAA-Oxidase-Bestimmung, abgewandelt nach PILET (1957), unterzogen. Für jede Bestimmung wurden je zwei Reagenzgläser mit folgender Lösung beschickt:

5,5 ml	Phosphatpuffer pH 6,1
1,0 ml	Cumarsäure 10^{-3} M
0,5 ml	MnCl_2 10^{-3} M
1,0 ml	Extrakt

In das eine Glas wurden zusätzlich 2,0 ml IAA 10^{-3} M gegeben. Beide Gläser wurden für 60 min bei 25°C inkubiert. Dann wurden von jeder Probe 2 ml in je ein Glas mit je 8 ml Salkowski-Reagenz gegeben und gemischt. Salkowski-Reagenz:

500 ml	aqua bidest.
15 ml	FeCl_3 1,5 M
300 ml	H_2SO_4 konz.

Nach einer Stunde wurden die Extinktionen bei 535 nm auf einem Colorimeter der Firma Klett-Summerson bestimmt. Alle Arbeitsgänge wurden bei grünem Licht und einer Temperatur von 25°C vorgenommen. Der prozentuale Abbau der IAA wurde nach folgender Formel errechnet:

$$\frac{K_o - K_t}{K_o} \cdot 10^2$$

K_o : IAA-Konzentration zur Zeit o

K_t : IAA-Konzentration zur Zeit t

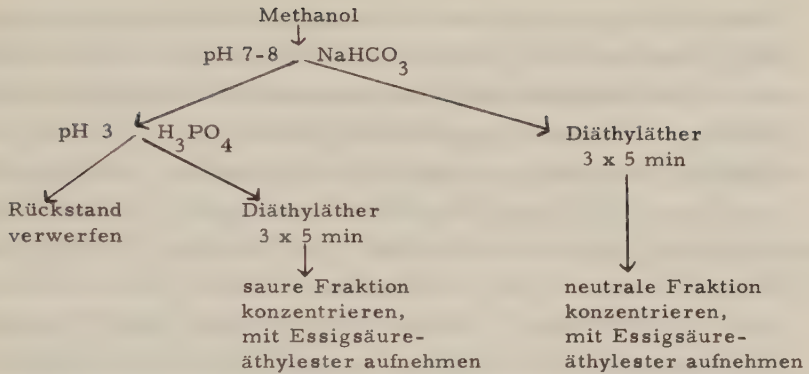
2.2.3. Quantitative Bestimmung des Wuchsstoffgehaltes

2.2.3.1. Extraktion

Die Extraktion nach PILET (1961a), ergänzt und abgeändert durch Berücksichtigung der Methoden von COLLET, DUBOUCHET et PILET (1964) und PILET et COLLET (1964), wurde mit kaltem Methanol und immer bei grünem Licht durchgeführt. Der Arbeitsgang wurde gegenüber der Standardmethode wesentlich verkürzt.

Zu 25 g des lyophilisierten, homogenisierten Materials wurden 500 ml Methanol (85 %) gegeben und bei -40°C zwei Stunden lang gerührt. Nach der Filtration wurde der Filtrerrückstand mit 200 ml Methanol abs. bei -40°C während 30 min extrahiert. Die Filtrate wurden zusammen bei 40°C auf 1/10 ihres Volumens im Vakuum eingengt, mit deionisiertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt und durch Zugabe von NaHCO_3 auf pH 7-8 eingestellt. Nun wurde dreimal 5 min lang mit je 100 ml Diäthyläther ausgeschüttelt, wie PILET et COLLET (1964) und PILET (1967) es angeben. Die Ätherfraktion wurde mit Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und unter Vakuum zur Trockne eingedampft (40°C). Der Rückstand wurde mit 100 ml Essigsäureäthylester aufgenommen (PILET 1964, 1966) und auf ein Volumen von 3 ml eingengt. Dieser Extrakt war die neutrale Fraktion.

Zum Erhalten der sauren Fraktion wurde die wässrige Phase mittels 2N H_3PO_4 auf pH 3 eingestellt, dann mit 100 ml Diäthyläther während 5 min extrahiert. Dieser Vorgang wurde dreimal wiederholt. Wie bei der Extraktion der neutralen Fraktion wurde mit Na_2SO_4 getrocknet, filtriert, bis zur Trockne eingedampft, mit 100 ml Essigsäureäthylester aufgenommen und auf 3 ml eingengt.



2.2.3.2. Dünnschichtchromatographie

Es wurden kieselgelbeschichtete Platten auf ihre Brauchbarkeit für die vorliegenden Untersuchungen getestet:

1. selbsthergestellte Glasplatten
(nach STAHL 1967)
2. Glasfertigplatten: Kieselgel-Merck
3. Plastikfolien: Kieselgel F₂₅₄

Es stellte sich heraus, daß die Plastikfolien am geeignetsten waren, da sich auf ihnen noch eine Konzentration von 10^{-6} M IAA bzw. IAN nachweisen ließ und die Flecken zum Eluieren ausgeschnitten werden konnten. Unter einer Reihe getesteter Fließmittel wurde schließlich AMIN - Methylacetat (45)/Isopropanol (35)/Ammoniak 25 % (20) - verwendet (PILET 1958a, b, PILET et FRAGATA 1966), da es eine optimale Trennung von IAA und IAN ergab.

Zur Chromatographie wurden in Vorversuchen jeweils 40 μ l, 200 μ l und 440 μ l der sauren + der neutralen Fraktion der Extrakte aus der

Normalform bzw. der Mutante *squamosa* auf die Startlinie aufgetragen. Im Hauptversuch wurden die saure und die neutrale Fraktion der Extrakte aus den drei Genotypen getrennt aufgetragen in den Mengen 40 μ l, 200 μ l und 400 μ l. Als Kontrolle wurden je 20 μ l einer $2,5 \cdot 10^{-2}$ M methanolischen Lösung von IAA bzw. IAN aufgetragen. Die Laufstrecke betrug 10 cm. Im Vorversuch wurden die Chromatogramme nach dem Trocknen in 10 je 1 cm breite Streifen parallel zur Startlinie zerschnitten, und diese weiter entsprechend den aufgetragenen Konzentrationen zerteilt. Das ergab je 10 rechteckige Teilstücke. Die mitgelaufenen Kontrollsubstanzen wurden anhand ihrer Fluoreszenz unter einer UV-Lampe markiert und ausgeschnitten. Zusätzlich wurde aus jedem Chromatogramm ein Stück entsprechender Größe zur Bestimmung des Blindwertes entnommen. Im Hauptversuch wurde das Chromatogramm der sauren Fraktion in Höhe der korrespondierenden Lage der IAA auseinandergeschnitten. Entsprechend den drei aufgetragenen Konzentrationen einschließlich des Blindwertes ergab das fünf Stücke. Das Chromatogramm der neutralen Fraktion wurde entsprechend behandelt.

Jedes gewonnene Teilstück der Chromatogramme wurde in 5 ml eines im Hinblick auf den quantitativen biologischen Test gewählten Puffers vier Stunden lang eluiert. Der Puffer hatte folgende Zusammensetzung:

K_2HPO_4 : 1,794g/l

Zitronensäure: 1,019g/l

Saccharose: 20g/l (PILET et DUBOUCHET 1962)

2.2.3.3. Weizenkoleoptiltest

Die quantitative Bestimmung des Wuchsstoffgehaltes in den Eluaten erfolgte mit Hilfe des Weizenkoleoptiltests nach PILET et DUBOUCHET (1962) und COLLET, DUBOUCHET et PILET (1964) in leicht abgewandelter Form:

Körner von *Triticum sativum* (Var. Vilmorin 27) wurden bei 24°C und Dunkelheit in deionisiertem Wasser gewaschen. Zur Keimung wurden die Körner auf feuchtes Filterpapier in eine Pyrex-Glaswanne gelegt, mit einer Glasplatte abgedeckt und 68 Stunden lang bei Dunkelheit und 24°C inkubiert. Danach wurden die Koleoptilen gemessen und diejenigen mit einer Länge von 20 ± 1 mm für den Versuch aussortiert. 5 mm unterhalb der Koleoptilspitze wurden mit einer "Guillotine" 5 mm lange Stücke abgeschnitten und vier Stunden lang in Aqua bidest. gewaschen. Danach wurden sie in Gruppen zu 20 auf Erlenmeyerkolben verteilt, deren jeder 5 ml Elutionsmittel bzw. Eluat enthielt. Um evtl. geotropische Reaktionen auszuschalten, wurden die Erlenmeyerkolben auf einer rotierenden Scheibe befestigt (1 Upm). Die Koleoptilfragmente blieben 20 Stunden lang in der Lösung; danach wurde ihre Länge unter einer binokularen Lupe gemessen.

Als Vortest zu diesem Versuch wurde das Wachstum der Weizenkoleoptilen unter Einfluß von im Elutionsmittel gelöster IAA bzw. IAN und von chromatographierter, eluierter IAA bzw. IAN in je zwei Parallelversuchen gemessen. Die für die Chromatographie aufgetragenen Mengen wurden so gewählt, daß die Wachstoffsstoffkonzentrationen in 5 ml Eluat theoretisch 10^{-3} bis 10^{-7} M hätten betragen müssen. Für die Bestimmung der Wirkung von IAA bzw. IAN nicht chromatographiert wurden diese Konzentrationen direkt in die Kulturgefäße gegeben.

2.2.3.4. Gaschromatographie

Die gaschromatographischen Analysen wurden mit einem VARIAN, Typ 1440, gemacht. Der Apparat war ausgerüstet mit einem Flammen-Ionisations-Detektor und einer Pyrex-Säule (innerer Durchmesser 3,2 mm, Länge 1,5 m). Das Trägermaterial, Gas Chrom CLP 100-120 mesh, war

beladen mit 5% OV-17 (Phenylvenylsilikon). Die Trennung erfolgte bei 200°C. Der Injektionsblock und die Detektorkammer wurden 50°C über der Temperatur des Ofens gehalten. Das Trägergas war Stickstoff, die Durchlaufgeschwindigkeit betrug 20 ml/min, die Empfindlichkeit 64×10^{-10} .

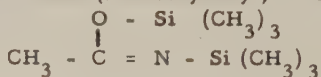
1 ml Extrakt der neutralen Fraktion wurde bis zur Trockne unter Stickstoff eingedampft, dann in 0,2 ml einer Mischung von Alkohol und Chloroform (1:1) aufgenommen. 2 µl dieses Gemisches wurden eingespritzt. IAN wurde mitchromatographiert und seine Retentionszeit als Standard verwandt.

Die Säuren der sauren Fraktion des Extrakts wurden zunächst verestert, um sie flüchtig zu machen (GRUNWALD, VENDRELL a. STOWE 1967, GRUNWALD, MENDEZ a. STOWE 1968). 1 ml Extrakt wurde mit Stickstoff eingedampft, dann in 0,1 ml Pyridin und 0,1 ml BSA^{x)} aufgenommen. Nach einer Stunde bei Zimmertemperatur wurden 2 µl der so veresterten sauren Fraktion des Extrakts injiziert. Die Retentionszeit von IAA-TMS (IAA-Trimethyl-Silyl) wurde als Standard verwandt.

2.2.3.5. Statistische Auswertung

Die Auswertung der Daten der Auxin-Oxidase-Bestimmung wurde mit Hilfe der Streuungserlegung vorgenommen. Die Auswertung des Koleoptiltests erfolgte mittels Regressionsrechnung und Covarianzanalyse (LINDER 1960). Die Regressionsrechnung wurde gewählt, um auch geringe Wuchsstoffaktivitäten erfassen zu können. Eine signifikante Beeinflussung des Koleoptilenwachstums ist gegeben, wenn der Regressionskoeffizient b signifikant von 0 verschieden ist. Unterschiedliche

^{x)}BSA: (N, O-Bis-(trimethylsilyl) - acetamid



Pierce Chemical Co.)

Aktivitäten verschiedener Extrakte lassen sich durch die Berechnung der Kovarianz beurteilen. Um die Schwankung zwischen den einzelnen Versuchen auszuschalten, wurde innerhalb jeden Versuchs jeder Wert einem Kontrollwert zufallsmäßig zugeordnet. Die Quotienten Versuchswert/Kontrollwert ($Y_V/Y_K = Y$) dienten als Ausgangswerte der Berechnung. Die Linearität der Regressionsgeraden wurde durch Logarithmierung der Extraktvolumina erreicht.

3. VERSUCHSERGEBNISSE

3.1. Sprühversuche zur Untersuchung der Phänokopierbarkeit

3.1.1. Beschreibung der aufgetretenen Phänokopien

3.1.1.1. Gibberellin

Die Konzentration von 0,01% erwies sich als unphysiologisch hoch. Alle Genotypen zeigten sehr rasch ein übermäßiges Längenwachstum. Der Haupttrieb war im Durchschnitt 16 cm länger als der der Kontrolle. Die Blütenbildung hörte auf. Die mit Kinetin besprühten Pflanzen und die nicht weiter behandelten verhielten sich gleich; sie zeigten bei Versuchsende folgenden Phänotyp: Die Kontrolle bestand aus 21 Pflanzen, davon 9 normale und 12 squamosa. Von den Versuchspflanzen blieben die 9 normalen phänotypisch normal, während sich die 12 squamosa unterschiedlich verhielten, indem 8 phänotypisch normal wurden und die 4 anderen den Phänotyp der Mutante fimbriata in abgeschwächter Form zeigten. Alle 21 Pflanzen blühten, keine zeigte den squamosa-Typ. Auf eine quantitative Auswertung des Versuchs wurde verzichtet.

3.1.1.2. IAA + CCC

Das Besprühen mit IAA (0,1%) + CCC (1,6%) hatte eine Wuchs- und Blühhemmung der 21 Pflanzen zur Folge; 14 ähnelten phänotypisch der Mutante *sterilis*, der *squamosa*-Effekt wurde demnach verstärkt (Abb. 1). Wurde das Gemisch bei Blühbeginn gesprüht, so zeigte sich außerdem eine Phänokopie der Mutante *serpentina* bei $81 \pm 4,2\%$ der Fälle (Abb. 2). Das gleiche Phänomen beobachtete auch KESSLER (unveröffentlicht). Wurde die Besprühung aber in einem früheren Entwicklungsstadium vorgenommen, so reagierten die Pflanzen nur mit einer Verstärkung des *squamosa*-Effekts, die *serpentina*-Phänokopie unterblieb in jedem Fall.



Abb. 1

Abb. 1

links: Kontrollpflanze
(normal)

rechts: Phänokopie der Mutante
sterilis nach Be-
sprühen mit
IAA + CCC

Abb. 2

links: Kontrollpflanze
(normal)

rechts: Phänokopie der
Mutante serpentina
nach Besprühen mit
IAA + CCC



Abb. 2

3.1.1.3. IAA + IAN

Bei den neun normalen Pflanzen der 21 behandelten konnte durch Besprühen mit IAA (0,1%) + IAN (0,005%) vor Anlage der Infloreszenzen in fünf Fällen die Mutante squamosa phänotypisch kopiert werden. (Abb. 3).

Durch Besprühen der Pflanzen bei Beginn der Blüte trat keine Veränderung ein: alle normalen Pflanzen blieben normal.



Abb. 3

links: Kontrollpflanze (normal)

rechts: Phänotypische Kopie der Mutante squamosa
nach Besprühen mit IAA + IAN

3.1.1.4. Kinetin

Durch Besprühen mit Kinetin (0,01%) vor Anlage der Infloreszenzen wurden von 16 squamosa-Pflanzen 5 normal, 6 weitere waren nur noch schwach ausgeprägt squamosa (Abb. 4). Von 10 nach der Anlage der Infloreszenzen besprühten squamosa-Mutanten wurde jedoch nur eine Pflanze phänotypisch normal.



Abb. 4

links: Kontrollpflanze
(squamosa-Mutante)
rechts: Phänokopie der Normalform
nach Besprühen mit Kinetin

3.1.2. Statistische Auswertung der Sprühversuche

3.1.2.1. Behandlung phänotypisch normaler und squamosa-Pflanzen mit IAA + CCC

Von 21 phänotypisch normalen und 41 squamosa-Pflanzen (der Linien 192, 212, B, C, D, E, F) wurden je zwei Stecklinge angezogen und in Parallelversuchen getestet. Ein Steckling diente als Kontrolle, der andere wurde mit IAA + CCC besprüht. Die Ergebnisse der statistischen Auswertung von Triebblänge, Anzahl der Blüten und Anzahl der Seitentriebe sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1 Triebblänge, Anzahl der Blüten und Anzahl der Seitentriebe bei Pflanzen der Linien 192, 212 und B - F nach Besprühen mit IAA + CCC.

Phänotyp und Behandlung	N	Triebblänge		Anzahl der Blüten		Anzahl der Seitentriebe	
		$\bar{x}$	m	$\bar{x}$	m	$\bar{x}$	m
normal Kontrolle	21	46,14	$\pm 0,45$	21,62	$\pm 0,42$	6,52	$\pm 0,31$
normal IAA + CCC	21	31,38	$\pm 0,29$	7,95	$\pm 0,58$	5,05	$\pm 0,23$
squa Kontrolle	41	51,78	$\pm 0,25$	10,20	$\pm 0,26$	6,05	$\pm 0,16$
squa IAA + CCC	41	37,51	$\pm 0,26$	2,85	$\pm 0,36$	5,22	$\pm 0,18$

Tabelle 2 t- und P-Werte für den Vergleich der Mittelwerte bei phänotypisch normalen Pflanzen und der Mutante *squamosa* aus den Linien 192, 212 und B - F nach Applikation von IAA + CCC.

Vergleich		Trieblänge	Anzahl der Blüten	Anzahl der Seitentriebe
normal Kontrolle	t	4,149	5,083	1,420
normal IAA + CCC	P	<0,0002	<0,0002	0,17
squa Kontrolle	t	5,798	5,844	0,939
squa IAA + CCC	P	<0,0002	<0,0002	0,35

Wie die Tabellen 1 und 2 ausweisen, wurden sowohl bei den normalen Pflanzen als auch bei der Mutante *squamosa* durch Besprühen mit IAA + CCC die Trieblänge und die Anzahl der Blüten signifikant reduziert. Die Anzahl der Seitentriebe blieb unverändert.

3.1.2.2. Behandlung phänotypisch normaler Pflanzen der
Linie A mit IAA + CCC, IAA + IAN bzw. Kinetin

Von 20 phänotypisch normalen Pflanzen der Linie A wurden je vier Stecklinge Parallelversuchen unterworfen; ein Steckling diente jeweils als Kontrolle, die übrigen wurden mit IAA + CCC, IAA + IAN bzw. Kinetin besprüht. Von den Pflanzen des Kinetin-Versuchs ging die Hälfte ein. Die Ergebnisse der statistischen Auswertung von Triebblänge, Anzahl der Blüten und Anzahl der Seitentriebe sind in Tabelle 3 dargestellt. Sie enthält alle Pflanzen ohne Rücksicht auf die durch Besprühung eingetretene phänotypische Veränderung.

Tabelle 3 Triebblänge, Anzahl der Blüten und Anzahl der Seitentriebe bei Pflanzen der Linie A nach Besprühen mit IAA + CCC, IAA + IAN bzw. Kinetin.

Phänotyp und Behandlung	N	Triebblänge		Anzahl der Blüten		Anzahl der Seitentriebe	
		$\bar{x}$	m	$\bar{x}$	m	$\bar{x}$	m
normal Kontrolle	20	35,95	$\pm 0,30$	10,35	$\pm 0,81$	3,85	$\pm 0,26$
normal IAA + CCC	20	26,45	$\pm 0,20$	2,90	$\pm 0,60$	3,75	$\pm 0,16$
normal IAA + IAN	20	28,62	$\pm 0,22$	5,71	$\pm 0,62$	3,29	$\pm 0,21$
normal Kinetin	10	33,3	$\pm 0,45$	11,40	$\pm 0,65$	3,90	$\pm 0,23$

In der Tabelle 4 sind die in Tabelle 3 aufgeführten Mittelwerte mit Hilfe des t-Testes verglichen.

Tabelle 4 Vergleich der Mittelwerte von behandelten und unbehandelten Pflanzen der Linie A aus Tab. 3 mit Hilfe des t-Tests.

Behandlung		Trieblänge	Anzahl der Blüten	Anzahl der Seitentriebe
IAA + CCC	t	4,432	2,443	0,145
	P	<0,0002	0,024	0,890
IAA + IAN	t	3,323	1,447	0,777
	P	0,0016	0,160	0,440
Kinetin	t	0,813	0,242	0,055
	P	0,420	0,810	0,955

Hinsichtlich der Trieblänge zeigt sich nach Behandlung mit IAA + CCC und IAA + IAN eine signifikante Wachstumshemmung. Die Anzahl der Blüten und die Anzahl der Seitentriebe erfahren in diesem Material keine signifikante Veränderung. Da nach Behandlung durch IAA + IAN, die beide Indolderivate sind, die durchschnittliche Anzahl der Blüten nur 5,71 betrug im Vergleich zu 10,35 der Kontrolle, wurde das Material dieses Versuchs noch einmal aufgeschlüsselt, indem die Pflanzen, die squamosa-Phänotypen darstellten, mit denjenigen, die nach der Behandlung ihren Phänotyp nicht veränderten, verglichen wurden. Das Ergebnis ist in Tabelle 5 zusammengestellt. Die P-Werte zeigen, daß die Anzahl der Blüten drastisch herabgesetzt ist, während Trieblänge und Anzahl der Seitentriebe keine signifikante Veränderung erfahren.

Tabelle 5 Vergleich der phänotypisch veränderten Pflanzen der Linie A mit den normal gebliebenen nach Besprühen mit IAA + IAN.

Phänotyp vor und nach der Behandlung	N	Trieblänge		Anzahl der Blüten		Anzahl der Seitentriebe	
		$\bar{x}$	m	$\bar{x}$	m	$\bar{x}$	m
normal → normal	7	25,57	$\pm 0,30$	14,29	$\pm 0,64$	4,43	$\pm 0,15$
normal → squa	13	30,00	$\pm 0,29$	1,46	$\pm 0,35$	2,77	$\pm 0,31$
t =		1,298		6,215		1,848	
P =		0,17		< 0,0002		0,09	

3.1.2.3. Behandlung phänotypisch normaler und squamosa Pflanzen der Linien 214, B und C mit IAA + CCC, IAA + IAN bzw. Kinetin

In dieser Versuchsreihe war der Versuchsansatz der gleiche wie in der unter 3.1.1.2. beschriebenen, nur daß diesmal auch Pflanzen vom Phänotyp squamosa einbezogen wurden. Die Trieblänge, die Anzahl der Blüten und die Anzahl der Seitentriebe ist in Tabelle 6 wiedergegeben. In Tabelle 7a und 7b sind die Mittelwertsvergleiche der in Tabelle 6 aufgeführten Werte zusammengestellt.

Tabelle 6 Trieblänge, Anzahl der Blüten und Anzahl der Seitentriebe von phänotypisch normalen und squamosa Pflanzen nach Behandlung mit IAA + CCC, IAA + IAN bzw. Kinetin und der dazugehörenden Kontrollen.

Phänotyp und Behandlung	N	Trieblänge		Anzahl der Blüten		Anzahl der Seitentriebe	
		$\bar{x}$	m	$\bar{x}$	m	$\bar{x}$	m
normal Kontrolle	12	44,58	$\pm 0,31$	19,33	$\pm 0,57$	5,02	$\pm 0,20$
squamosa Kontrolle	16	59,19	$\pm 0,49$	4,50	$\pm 0,40$	2,44	$\pm 0,31$
normal IAA + CCC	12	37,58	$\pm 0,42$	12,67	$\pm 0,62$	4,33	$\pm 0,27$
squamosa IAA + CCC	17	35,88	$\pm 0,57$	1,12	$\pm 0,60$	3,01	$\pm 0,27$
normal IAA + IAN	10	35,10	$\pm 0,32$	9,90	$\pm 0,92$	3,90	$\pm 0,41$
squamosa IAA + IAN	17	40,94	$\pm 0,47$	5,12	$\pm 0,83$	2,24	$\pm 0,30$
normal Kinetin	5	43,40	$\pm 0,81$	19,01	$\pm 0,68$	4,60	$\pm 0,36$
squamosa Kinetin	16	52,94	$\pm 0,56$	7,13	$\pm 0,81$	2,25	$\pm 0,30$

Tabelle 7a

t- und P-Werte für den Vergleich von
Triebblänge, Anzahl der Blüten und Anzahl
der Seitentriebe zwischen der unbehandelten
normalen Kontrolle einerseits und der squamosa
Kontrolle sowie den behandelten normalen Pflanzen
andererseits.

Phänotyp und Behandlung		Triebblänge	Anzahl der Blüten	Anzahl der Seitentriebe
squamosa Kontrolle	t P	2,946 0,008	5,794 < 0,0002	3,18 0,005
normal IAA + CCC	t P	2,01 0,06	1,86 0,06	0,81 0,42
normal IAA + IAN	t P	3,12 0,006	2,29 0,035	1,07 0,30
normal Kinetin	t P	2,32 0,82	0,07 0,95	0,41 0,69

Tabelle 7b

t- und P-Werte für den Vergleich von
Triebblänge, Anzahl der Blüten und Anzahl
der Seitentriebe zwischen der unbehandelten
squamosa Kontrolle und den behandelten squamosa.

Phänotyp und Behandlung		Triebblänge	Anzahl der Blüten	Anzahl der Seitentriebe
squamosa IAA + CCC	t P	4,38 < 0,0002	2,57 0,016	0,69 0,48
squamosa IAA + IAN	t P	3,63 < 0,0012	0,26 0,80	0,25 0,80
squamosa Kinetin	t P	1,08 0,28	1,02 0,32	0,23 0,82

Aus den Tabellen 6, 7a und b lassen sich folgende Fakten entnehmen:
Bei den Pflanzen vom Phänotyp squamosa ist die Trieblänge gegenüber der normalen Kontrolle signifikant erhöht, die Anzahl der Blüten und der Seitentriebe deutlich reduziert. Bei den normalen behandelten Pflanzen wird lediglich durch IAA + IAN die Trieblänge signifikant verkürzt, während alle anderen Werte keine Signifikanz gegenüber der Kontrolle zeigen. Auffallend ist vielleicht, daß nach Behandlung mit IAA + IAN der Vergleich hinsichtlich der Blüten mit $P = 0,035$ unter dem 5%-Niveau bleibt und damit evtl. auf eine Verminderung der Blütenanzahl hindeutet. Nach der Behandlung von squamosa Pflanzen wird durch IAA + CCC und IAA + IAN die Trieblänge reduziert. Die Anzahl der Blüten erfährt durch IAA + CCC ebenfalls eine Reduktion ($P = 0,016$); alle übrigen Werte sind nicht signifikant verändert. In diesen Versuchen waren 10 normale Pflanzen mit IAA + IAN behandelt worden, von denen vier eine Phänotypkopie von squamosa zeigten. Das Material ist in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8 Vergleich der phänotypisch veränderten Pflanzen der Linien 214, B und C mit den normal gebliebenen nach Besprühen mit IAA + IAN.

Phänotyp vor und nach der Behandlung	N	Trieblänge		Anzahl der Blüten		Anzahl der Seitentriebe	
		$\bar{x}$	m	$\bar{x}$	m	$\bar{x}$	m
normal → normal	6	35,1	$\pm 0,38$	16,2	$\pm 0,73$	5,2	$\pm 0,42$
normal → squamosa	4	35,0	$\pm 0,56$	0,5	$\pm 0,22$	2,0	$\pm 0,64$
t =		0,038		3,791		1,841	
P =		0,97		0,0035		0,09	

Wie die in der Tabelle 8 aufgeführten P-Werte zeigen, ist bei den Phänokopien die Anzahl der Blüten signifikant herabgesetzt, während die Trieblänge und die Anzahl der Seitentriebe unverändert bleiben. Unter den 16 behandelten squamosa Pflanzen traten nach Kinetin-Behandlung fünf Phänokopien der Normalform auf. Diese Daten sind in Tabelle 9 zusammengefaßt.

Tabelle 9 Vergleich der phänotypisch veränderten Pflanzen der Linien 214, B und C mit den unveränderten Mutanten nach Besprühen mit Kinetin.

Phänotyp vor und nach der Behandlung	N	Trieblänge		Anzahl der Blüten		Anzahl der Seitentriebe	
		$\bar{x}$	m	$\bar{x}$	m	$\bar{x}$	m
squamosa → squamosa	11	54,82	$\pm 0,71$	1,82	$\pm 0,52$	2,18	$\pm 0,40$
squamosa → normal	5	48,80	$\pm 0,80$	18,80	$\pm 0,74$	2,40	$\pm 0,41$
t =		0,641		6,222		0,177	
P =		0,52		0,0002		0,86	

Es ergibt sich eine hochsignifikante Vermehrung der Anzahl der Blüten, aber kein Einfluß auf Trieblänge oder Anzahl der Seitentriebe.

3.1.2.4. Varianzanalyse

Um zu prüfen, ob zwischen den verwendeten Phänotypen (normal und squamosa) und der Behandlungsart Wechselwirkungen bestehen, wurden hinsichtlich der Trieb länge, der Anzahl der Blüten und der Anzahl der Seitentriebe Varianzanalysen durchgeführt. Die Streuungszerlegung hinsichtlich der Trieb länge ergibt für den Unterschied normal - squamosa keine Signifikanz ($0,01 < P < 0,05$). Der Einfluß der Behandlung ist dagegen hochsignifikant ($P < 0,001$). Eine Wechselwirkung zwischen den beiden Faktoren konnte nicht nachgewiesen werden ($P > 0,05$). Die durch die Berechnung der Werte für die Streuungszerlegung gewonnenen Konstanten sind in Tabelle 10 zusammengestellt.

Tabelle 10 Zusammenstellung der aus der Streuungszerlegung gewonnenen Konstanten für die Trieb länge.

Faktor	Konstante
normal	0
squamosa	+6,7
Kontrolle	0
IAA + CCC	-16,4
IAA + IAN	-14,5
Kinetin	- 3,5
gemeinsam	+49,1

Für die Anzahl der Blüten ergibt die Streuungszerlegung zwischen der Normalform und squamosa natürlich eine sehr hohe Signifikanz ($P \ll 0,001$), während der Einfluß der Behandlung nicht signifikant ist ($0,01 < P < 0,05$); dementsprechend kann hier keine Wechselwirkung bestehen. Die berechneten Konstanten sind in Tabelle 11 aufgeführt.

Tabelle 11 Zusammenstellung der aus der Streuungszerlegung gewonnenen Konstanten für die Anzahl der Blüten.

Faktor	Konstante
normal	0
squamosa	-10,8
Kontrolle	0
IAA + CCC	- 4,8
IAA + IAN	- 3,3
Kinetin	+ 1,1
gemeinsam	17,0

Schließlich wurde noch die Streuungszerlegung für die Anzahl der Seitentriebe durchgeführt. Hier ergibt sich zunächst ein signifikanter Unterschied zwischen der Normalform und der Mutante squamosa ($P < 0,001$). Auch der Einfluß der Behandlung ist deutlich ($P \sim 0,001$). Darüber hinaus ergibt sich für die Wechselwirkung ebenfalls Signifikanz ($P \sim 0,001$). Aus diesem Grunde erübrigt sich die Angabe der berechneten Konstanten.

Die Gesamtbetrachtung dieser Versuche zeigt, daß durch die Besprühung keine generelle Phänokopierbarkeit gegeben ist.

3.2. Auxin - Oxidase - Bestimmung

Da die IAA-Oxidase den Blühvorgang über die Kontrolle des Auxinspiegels beeinflusst (GALSTON a. HILLMAN 1961), schien es nach den Ergebnissen der Sprühversuche aussichtsreich, die IAA-Oxidase-Aktivität zu bestimmen. Sie wurde ermittelt in Extrakten aus der Normalform von *Antirrhinum majus*, der Mutante *squamosa* und der genetisch supprimierten Mutante. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in den Tabellen 12 und 13 zusammengestellt.

Tabelle 12 Bestimmung der Auxin-Oxidase-Aktivität.
Prozentualer Abbau der IAA in Extrakten aus
der Normalform von *Antirrhinum majus*, der
Mutante *squamosa* und der supprimierten Mutante.
n = Anzahl der Parallelversuche
 $\bar{x}$ = durchschnittlicher prozentualer Abbau der IAA
s = mittlere quadratische Abweichung
m = mittlerer Fehler des Mittelwertes

Typ	n	$\bar{x}$	s	m
normal	15	32,35	+ 2,41	+ 0,63
squamosa	20	23,06	+ 10,86	+ 2,49
squa sup	20	32,92	+ 4,04	+ 0,93

$$F = 11,656$$

$$P < 0,001 \quad n_1 = 2; \quad n_2 = 52$$

Der Gehalt an Auxin-Oxidase, der durch den in vitro-Abbau von IAA in lyophilisierten Proben gemessen wurde, zeigt, daß die Mutante *squamosa* im Durchschnitt eine deutlich geringere Auxin-Oxidase-Aktivität aufweist als der Normaltyp ($t_{33} = 3,24$; $P = 0,0027$). Die durch einen

genetischen Suppressor phänotypisch normale Mutante läßt dagegen keine veränderte Auxin-Oxidase-Aktivität im Vergleich zum Normaltyp erkennen ($t_{33} = 0,485$; $P = 0,63$). Die hohe mittlere quadratische Abweichung von $s = +10,86$ bei der Mutante squamosa wird ersichtlich bei der Betrachtung der Verteilung der einzelnen Meßwerte, die in Tabelle 13 dargestellt ist. Die Verteilung der Einzelwerte weist beim normalen Typ eine sehr geringe Streuung auf, bei der Mutante squamosa streuen die Werte dagegen außerordentlich stark und erreichen z. T. Werte, die noch über denen des Normaltyps liegen. Bei der supprimierten Mutante bewegen sich die Einzelwerte zum größten Teil im Bereich des normalen Typs, einige liegen im oberen Bereich der Werte der Mutante.

Tabelle 13 Bestimmung der Auxin-Oxidase-Aktivität.
Verteilung der 55 Einzelwerte aus Tabelle 12.

Typ	5	10	15	20	25	30	35	40
normal						3	12	
squamosa	2	2	7	1	2	2	3	1
squa sup						1	16	1

Die aufgefundenen Unterschiede der Auxin-Oxidase-Aktivität ließen vermuten, daß die Extrakte aus den verschiedenen Typen auch unterschiedliche Wachstumsstimulation im Weizenkoleoptiltest zeigen.

3.3. Quantitative Bestimmung des Wuchsstoffgehaltes

3.3.1. Analyse der Wachstumsaktivitäten der Extrakte aus der Normalform und der Mutante squamosa im Weizenkoleoptilttest und ihre Lokalisation auf den Chromatogrammen

Zunächst wurde der Einfluß der Chromatographie auf definierte Mengen von IAA und IAN untersucht. Da durch die Chromatographie erfahrungsgemäß Substanzverluste auftreten (GÄNSHIRT 1967), wurden verschiedene IAA- und IAN-Mengen in der gleichen Weise wie die Extrakte chromatographiert und ihre Wirksamkeit nach der Eluierung mit entsprechenden Mengen nichtchromatographierter Substanz im Weizenkoleoptilttest verglichen. IAA und IAN zeigten im Konzentrationsbereich von 10^{-7} bis 10^{-4} M in jedem Fall eine eindeutig stimulierende Wirkung auf das Wachstum der Weizenkoleoptilen; allerdings ergab sich nach Dünnschichtchromatographie der Substanzen eine starke Verminderung der Aktivitäten, wobei IAN bei gleicher molarer Konzentration deutlich wirksamer war als IAA. Eine wachstumshemmende Wirkung von IAA und IAN setzte im Bereich der Konzentration von 10^{-4} bis 10^{-3} M ein.

In dem Versuch zur Analyse der Wachstumsaktivitäten der Extrakte aus der Normalform und der Mutante squamosa wurde geprüft, ob sich in den Extrakten durch den Weizenkoleoptilttest Wuchsstoffe nachweisen lassen und ob sich die Normalform von *Antirrhinum majus* von der Mutante unterscheidet.

Die Ergebnisse dieses Versuchs sind in Tabelle 14, die ihr zugrundeliegenden Regressionsgeraden auf den Abbildungen 5a - c dargestellt. Die Regressionskoeffizienten b spiegeln die wachstumsfördernde bzw. -hemmende Wirkung der einzelnen Chromatogrammabschnitte wieder. In der Normalform und der Mutante lassen sich im Bereich R_f 0 bis 0,4 deutliche Wachstumshemmungen nachweisen. (Ein Effekt, für den keiner der vermuteten Wuchsstoffe verantwortlich sein kann, der vielmehr durch andersartige, im Extrakt vorhandene Substanzen hervorgerufen werden muß.) Im Bereich R_f 0,4 bis 0,6 kann kein Effekt beobachtet werden. Zwischen R_f 0,6 und 0,8 läßt sich für die Normalform eine eindeutige Wachstumshemmung feststellen, bei der Mutante dagegen nicht. Der Bereich R_f 0,8 bis 0,9 zeigt eine schwache Wachstumsstimulation, die bei der Mutante deutlich größer ist als bei der Normalform. Im frontnahen Bereich kann keine Wirkung nachgewiesen werden. Im Vergleichs-chromatogramm liegen IAA bei R_f 0,3 bis 0,4 und IAN bei R_f 0,9 bis 1,0.

Tabelle 14

Ergebnisse des Tests der Wachstumsintensitäten der Gesamtextrakte: Spalte 3 und 6 enthalten die aus dem Weizenkoleoptilttest ermittelten Regressionskoeffizienten (b) der Wachstumsbeeinflussung für die Normalform bzw. für die Mutante *squamosa*. In den Spalten 4 und 7 stehen die dazugehörigen P-Werte für die Neigung der Regressionsgeraden. Die Spalten 5 und 8 geben die P-Werte für die Unterschiede der Regressionskoeffizienten gleicher Chromatogrammabschnitte der Normalform und der Mutante wieder. Die P-Werte für die Streuung um die Regression liegen durchweg über 0,001, meist über 0,05 und wurden deshalb nicht in der Tabelle aufgeführt.

Tabelle 14

Regressions- gerade Nr.	Rf	normal			squamosa		
		b	P auf R	Covarianz P	b	P auf R	Covarianz P
1	0 - 0,1	-0,050	< 0,01	≪ 0,001	-0,113	< 0,001	≪ 0,001
2	0,1 - 0,2	-0,137	< 0,001	< 0,05	-0,074	< 0,01	≪ 0,001
3	0,2 - 0,3	-0,117	< 0,001	< 0,001	-0,094	< 0,001	< 0,001
4	0,3 - 0,4	-0,049	< 0,01	< 0,05	-0,150	< 0,001	≪ 0,001
5	0,4 - 0,5	-0,026	> 0,05	< 0,01	-0,007	> 0,05	> 0,05
6	0,5 - 0,6	-0,002	> 0,05	≪ 0,001	-0,018	> 0,05	< 0,01
7	0,6 - 0,7	-0,070	< 0,001	≪ 0,001	+0,043	< 0,01	≪ 0,001
8	0,7 - 0,8	-0,116	< 0,001	≪ 0,001	+0,043	< 0,05	≪ 0,001
9	0,8 - 0,9	+0,054	< 0,05	< 0,001	+0,094	< 0,01	≪ 0,001
10	0,9 - 1,0	-0,006	> 0,05	< 0,001	+0,029	> 0,05	> 0,05

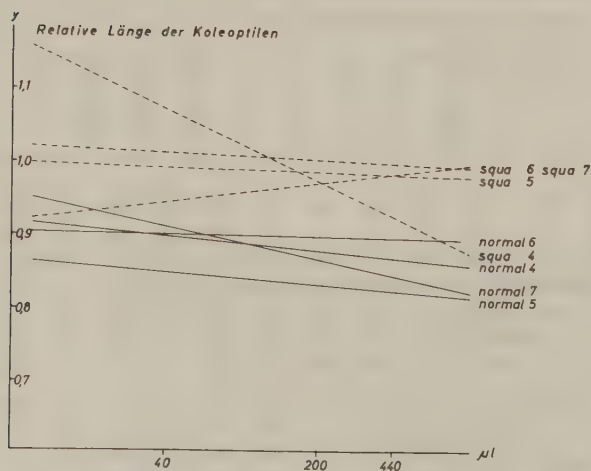
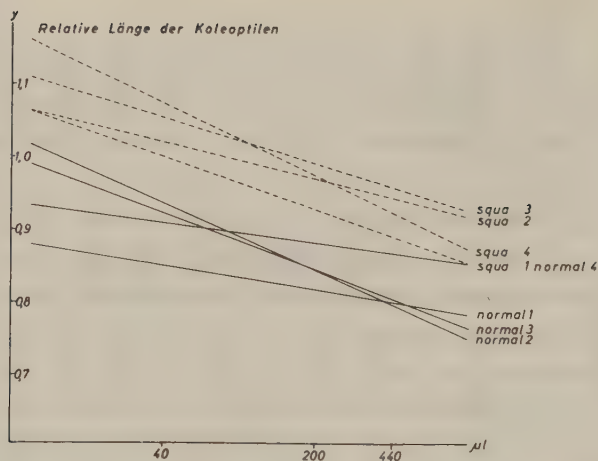


Abb. 5a und b

Regressionsgeraden aus den Gesamtextrakten (s. Tab. 14).

Die Kurven 1 bis 7 beziehen sich auf die Chromatogrammabschnitte.

Abszisse: aufgetragene Extraktmenge (μ l)

Ordinate: relative Länge der Weizenkoleoptilen (y)

Kontrolle = 1

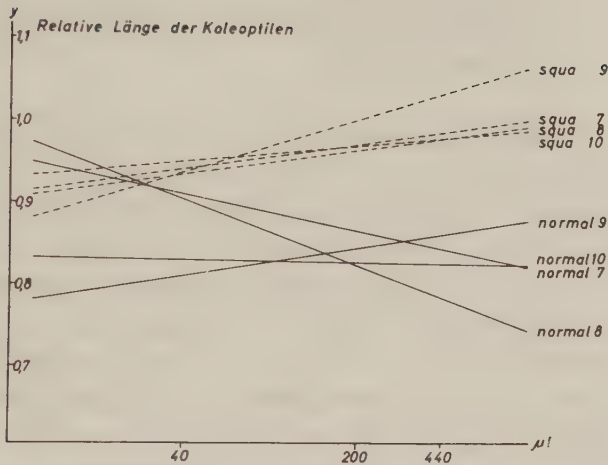


Abb. 5 c

Regressionsgeraden aus den Gesamtextrakten (s. Tab. 14).
Die Kurven 7 bis 10 beziehen sich auf die Chromatogrammausschnitte.

Abszisse: aufgetragene Extraktmenge (μ l)

Ordinate: relative Länge der Weizenkoleoptilen (y)
Kontrolle = 1

3.3.2

Analyse der Wachstumsaktivitäten der Extrakte
aus der Normalform, der Mutante squamosa und
der supprimierten Mutante nach dünnschichtchro-
matographischer Auftrennung der sauren und der
neutralen Fraktionen

Die Untersuchungen der Gesamtextrakte haben gezeigt, daß sich die Normalform von der Mutante unterscheidet. Da aus technischen Gründen nicht alle Chromatogrammabschnitte weiter untersucht werden konnten, beschränkten wir uns für die saure Fraktion auf den Bereich R_f 0,3 - 0,4 und für die neutrale Fraktion auf den Bereich R_f 0,9 - 1,0. Der Abschnitt R_f 0,3 - 0,4 interessierte, weil hier in den Vergleichschromatogrammen IAA lag und zum anderen bei dem Vergleich der Normalform mit der Mutante squamosa eine hochsignifikante Kovarianz ($P \ll 0,001$) aufgezeigt werden konnte. Im Gegensatz hierzu wurde in dem R_f -Bereich 0,9 - 1,0, in dem auf den Kontrollchromatogrammen IAN lag, bei der Untersuchung der Gesamtextrakte keine Aktivität und somit auch keine Kovarianz gefunden. Es erschien reizvoll, gerade hier die Fraktionen gesondert zu testen.

In Tabelle 15 sind zunächst für alle Extraktionsversuche die Regressionskoeffizienten (b) sowie die P-Werte für den Anstieg der Regressionsgeraden (P auf der Regression) und die P-Werte für die Streuung der einzelnen Kurvenpunkte um die Regressionsgeraden wiedergegeben. Spalte 5 enthält die P-Werte der Kovarianzanalysen. Wie die Daten ausweisen, lassen sich alle Parallelversuche zu gemeinsamen Regressionen zusammenfassen. Die gemeinsamen Regressionsgeraden sind in Abbildung 6 dargestellt.

Die Berechnung der gemeinsamen Regressionen (Tab. 15) ergibt folgendes: Die Extrakte normal-neutral, squamosa-neutral, supprimiert-neutral und supprimiert sauer zeigen mit zunehmender Konzentration einen sehr stark steigenden Hemmungseffekt auf das Koleoptilenwachstum. Bei den Extrakten aus normal-sauer liegt ebenfalls eine signifikante Hemmwirkung vor; lediglich die Extrakte aus squamosa-sauer zeigen keinen Effekt.

Tabelle 15

Quantitative Untersuchung der Wachstumshemmung der Eluate aus den Extrakten der Normalform, der Mutante

squamosa und der supprimierten Mutante im Rf-Bereich von 0,3 - 0,4 und 0,9 - 1,0.

Fraktion	b	Einzel-Regressionen			P Covarianz	Gemeinsame Regressionen		
		P auf der Regressionsgeraden	P um die Regressionsgerade			b	P auf der Regressionsgeraden	P um die Regressionsgerade
normal-neutral	1	-0,1831	<0,001	>0,05	>0,05	-0,2014	<0,001	>0,05
	2	-0,2161	<0,001	>0,05				
squa-neutral	1	-0,2282	<0,001	<0,05	>0,05	-0,2176	<0,01	>0,05
	2	-0,2086	<0,001	>0,05				
sup-neutral	1	-0,1841	<0,001	>0,05	>0,05	-0,1518	<0,001	>0,05
	2	-0,1189	<0,001	>0,05				
normal-sauer	1	-0,0330	>0,05	>0,05	>0,05	-0,0590	<0,001	<0,05
	2	-0,0835	<0,001	<0,001				
squa-sauer	1	-0,0200	<0,05	>0,05	>0,05	-0,0141	>0,05	>0,05
	2	-0,0051	<0,05	>0,05				
sup-sauer	1	-0,1336	<0,001	<0,001	>0,05	-0,1546	<0,001	>0,05
	2	-0,1756	<0,001	>0,05				

Die Regressionskoeffizienten der gemeinsamen Regressionen der sechs Fraktionen werden in Tabelle 16 mit Hilfe der Covarianzanalyse miteinander verglichen. Der Vergleich ergibt, daß die Regressionsgeraden

normal-neutral und squamosa-neutral,
normal-neutral und supprimiert-neutral,
normal-neutral und supprimiert-sauer,
supprimiert-neutral und supprimiert-sauer,
normal-sauer und squamosa-sauer

parallel verlaufen.

Die übrigen 10 Covarianzen ergaben signifikante Unterschiede (Signifikanzniveau $P=0,01$).

Tabelle 16 P-Werte für den Vergleich von jeweils zwei Regressionskoeffizienten (aus Tabelle 15) mit Hilfe der Covarianzanalyse.

	squa-neutral	sup-neutral	normal-sauer	squa-sauer	sup-sauer
normal-neutral	$<0,05$	$<0,05$	$<0,001$	$\ll 0,001$	$>0,05$
squa-neutral	-	$<0,01$	$<0,001$	$\ll 0,001$	$<0,01$
sup-neutral	-	-	$<0,001$	$<0,001$	$>0,05$
normal-sauer	-	-	-	$<0,05$	$<0,001$
squa-sauer	-	-	-	-	$<0,001$

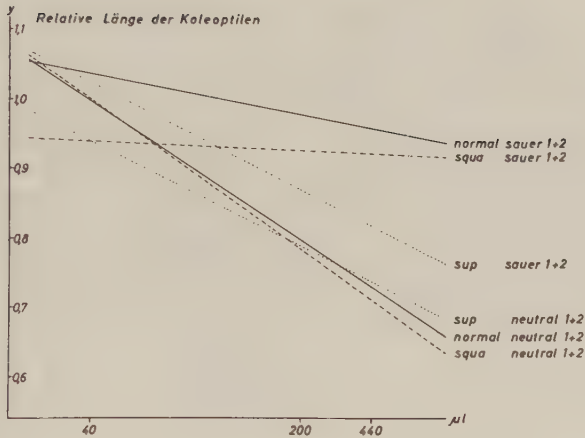


Abb. 6

Gemeinsame Regressionsgeraden für die Wachstumshemmung der Eluate aus den Extrakten der Normalform, der Mutante squamosa und der supprimierten Mutante von *Antirrhinum majus* Sippe 50 im Rf-Bereich von 0,3 - 0,4 und 0,9 - 1,0.

Abszisse: aufgetragene Extraktmenge (µl)

Ordinate: Länge der Koleoptilen bezogen auf die Kontrolle (y)

3.3.3. Gaschromatographie

Die Gaschromatographie^{x)} ergab ein spezifisches Bild für die jeweiligen Genotypen und deren saure bzw. neutrale Fraktionen. Innerhalb dieser Fraktionen variierte das Verhältnis der Peakhöhen zueinander, ergab jedoch insgesamt ein typisches Bild der Fraktion. In den meisten Fällen lagen die Retentionszeiten der Extraktstoffe vor den Retentionszeiten der als Vergleichssubstanz eingespritzten Indole. Trotz starken Anreicherungsgrades der Extrakte und hoher Empfindlichkeit des Gaschromatographen konnte kein Hinweis auf die Anwesenheit von IAA bzw. IAN gefunden werden (Abb. 7a und b).

^{x)} Für die Durchführung dieser Untersuchung bin ich Herrn Dr. Laurent RIVIER vom Institut de Biologie et de Physiologie Végétales in Lausanne zu Dank verpflichtet.

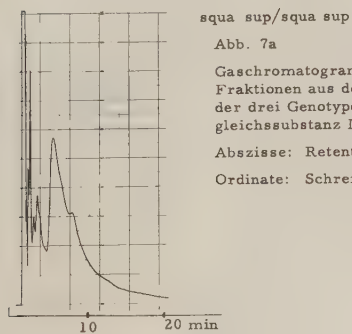
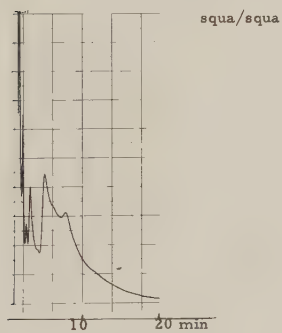
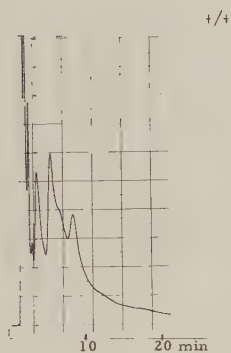


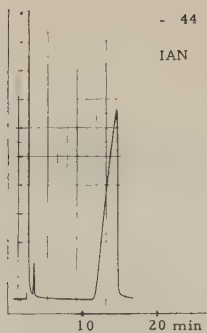
Abb. 7a

Gaschromatogramme der sauren
Fraktionen aus den Extrakten
der drei Genotypen und der Ver-
gleichssubstanz IAA.

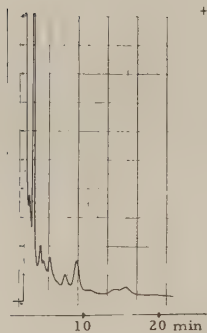
Abszisse: Retentionszeit

Ordinate: Schreiberausschlag

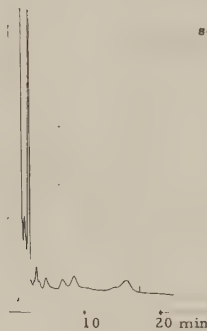
IAN



+/+



squa/squa



squa sup/squa sup

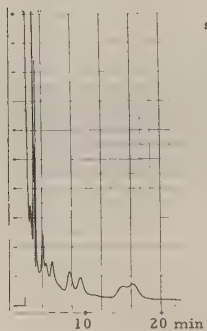


Abb. 7b

Gaschromatogramme der neutralen Fraktionen aus den Extrakten der drei Genotypen und der Vergleichssubstanz IAN.

Abszisse: Retentionszeit

Ordinate: Schreiberausschlag

4. . DISKUSSION

"Für jede Mutation stellen sich der Phänokopieforschung zwei gegensinnig gerichtete Aufgaben: es muß versucht werden, die Mutation im nicht-mutierten Substrat der Wildform zu phänokopieren, und es wäre umgekehrt eine Behandlung zu suchen, die einer Mutante die Ausbildung des Wildphänotyps ermöglicht" (HADORN 1955). Mit diesem Satz ist die Aufgabenstellung der "Sprühversuche zur Untersuchung der Phänokopierbarkeit" umrissen: Durch Besprühen mit Wachstumsregulatoren sollte bei normalen Pflanzen von *Antirrhinum majus* die Mutante *squamosa* phänokopiert werden und umgekehrt sollte bei *squamosa*-Mutanten die Ausbildung der Normalform provoziert werden.

Betrachten wir zunächst den Sprühversuch, der an normalen Pflanzen die Phänokopie der Mutante *squamosa* hervorbringen sollte. Durch IAA + CCC bzw. IAA + IAN wurden von jeweils 20 phänotypisch normalen Pflanzen 14 bzw. 13 zu *squamosa* modifiziert. Hier könnte man ähnliche Schlüsse ziehen wie STEIN, die schon 1939 aus den Ergebnissen ihrer Pfropfversuche mit *Antirrhinum siculum* folgerte: "So gibt die Mutante sterilis eine ganze Reihe von Hinweisen für die Wahrscheinlichkeit einer verstärkten Auxinwirkung als Eigenschaft der Mutation. Eine korrelative Beziehung zum Fehlen der Blüten und Achselsproßanlagen ist denkbar." In diese Richtung weisen auch die Arbeiten von LOCKHARD und HAMNER (1954), COOKE (1954) und von HAMNER und NANDA (1956) an *Xanthium* und Soja. Sie fanden einen geringen Wuchsstoffgehalt während der Blühinduktionsphase, was HESS (1958) für *Streptocarpus Wendlandii* bestätigt. Auch in unseren Versuchen trat der *squamosa*-Phänotyp nur auf, wenn die Wuchsstoffgemische vor Anlage der Infloreszenzen gesprüht wurden. Die Applikation von IAA + CCC bei Blühbeginn jedoch hatte in 81 % der Fälle eine Phänokopie der Mutante *serpentina* zur Folge, während

phänotypisch normale Pflanzen durch Besprühen mit IAA + IAN zu diesem Zeitpunkt keine Veränderung zeigten. Das Ergebnis bestätigt die Aussage HADORN's (1955), daß dasselbe Agens in Abhängigkeit von der sensiblen Phase verschiedene Mutationen kopieren kann. Wie eng abgegrenzt diese sensitiven Stadien sein können, zeigte GLOOR (1946, 1947) in seinen Phänokopieversuchen an *Drosophila melanogaster*. Der tetraptera-Effekt durch Ätherbehandlung war auf die 1. bis 5. Stunde nach der Eiablage mit einem Maximum bei etwa drei Stunden beschränkt. Bei einem Klon von Pflanzen, die gemeinsam in den Sprühversuch gehen, läßt sich allerdings der Zeitpunkt "vor Anlage der Infloreszenzen" für die einzelne Pflanze nicht so genau bestimmen wie die Zeit nach der Eiablage bei Insekten, da das physiologische Alter in einer Gruppe zeitlich gleich alter Blütenpflanzen variiert. Insofern ist anzunehmen, daß sich die sensible Phase für die Manifestation der squamosa-Phänokopie durch das Besprühen mit einem Gemisch aus IAA + CCC bzw. IAA + IAN über einige Tage erstreckt. Eine Phänokopie der Mutante *serpentina* - sie ist gekennzeichnet durch [†] verkrümmte und geschlängelte Sproßglieder (STUBBE 1966) - konnte nach Applikation eines Gemisches von IAA + CCC bei Blühbeginn erreicht werden. Der Effekt starker Verkrümmung als abartiges Wachstum bei Dikotyledonen wird aber auch nach Anwendung von 2,4-D beschrieben (HESS 1972). Nach CRAFTS (1964) bewirkt 2,4-D eine erhöhte zelluläre Wasseraufnahme bzw. -retention ähnlich wie IAA; während die Indolylessigsäure jedoch von der Pflanze oxidativ abgebaut werden kann, versagt diese Regulierung bei 2,4-D weitgehend, wodurch es zu einer Zelldehnung kommt, die zu einer Verkrümmung und Verdickung der Stengel führt. Interessant sind die außerordentlich hohen Raten von 81% für die *serpentina*-Phänokopie und von 70% bzw. 65% für die *squamosa*-Phänokopie. Die Versuche zur Phänokopierbarkeit der tetraptera-

Mutation durch Äther (GLOOR 1947) ergaben z. B. eine Ausbeute von 30%, die Kaulhuhn-Mutation konnte durch Insulinbehandlung (LANDAUER 1947a, b; 1948, 1954) zu 50% und Schnabelabnormitäten beim Huhn durch Borsäureinjektion in den Eidotter (LANDAUER 1952) zu 70% phänotypiert werden. Phänotypierten von 100% scheint es nur in seltenen Fällen zu geben, wie etwa bei der Bildung der Gaumenspalte durch Cortisonbehandlung trächtiger Mäuse bestimmter genetischer Konstitution (KALTER and FRASER 1952). Die hohen Phänotypierten bei der Merkmalsbildung der Mutante *squamosa* könnten erklärt werden durch die deutlich geringere Auxin-Oxidase-Aktivität in der Mutante. Die starke Streuung der Werte dieser Enzym-Aktivität zeigt, daß hier ein labiles System vorliegt, in dessen Wirkungsmechanismus durch Applikation von Wuchsstoffen eingegriffen werden kann. OVERBECK (1966) hält es für möglich, daß Phytohormone durch Förderung der Synthese von m-RNA den Anstoß zu neuen Synthesen spezifischer Enzyme geben, die wiederum die Biochemie und damit die Physiologie des Organismus überwachen. Wie PILET und BRAUN (1967) an Linsenwurzeln zeigten, besteht eine direkte Beziehung zwischen RNA- und Auxingehalt und eine indirekte Beziehung zwischen RNA-Gehalt und Auxinoxidase-Aktivität, was vermuten läßt, daß der RNA-Gehalt durch den Auxingehalt kontrolliert wird, der letztlich abhängig ist von der Auxinoxidase. Diese Vorstellung wird von ZENK (1970) aufgegriffen und zu einem hypothetischen Schema der Phytohormonwirkung mit zwischengeschaltetem Sekundärmediator ausgebaut. Die höhere Auxin-Oxidase-Aktivität, die einen geringeren Gehalt der normalen Pflanzen an IAA zur Folge haben müßte und ihnen dadurch das Blühen ermöglicht, wird durch die Zugabe der chemischen Agenzien "korrigiert", so daß die Blütenbildung nicht stattfindet. Umgekehrt müßte eine Behandlung, die bei *squamosa*-Mutanten die Ausbildung der Normalform ermöglicht, die in der Mutante geringere Auxin-Oxidase-Aktivität "ankurbeln",

so daß als Folge verstärkten IAA-Abbaues die Pflanzen zur Blüte kommen können. Die starke Streuung der Werte für die Auxin-Oxidase-Aktivität bei der *squamosa*-Mutante legt die Vermutung nahe, daß die Mutanten reagieren, deren Auxin-Oxidase-Aktivität etwa unter 25 (s. Tab. 13) liegt, und so in den mutierten Pflanzen durch Anhebung des Enzymspiegels die IAA-Konzentration derjenigen in normalen Pflanzen angeglichen wird. Erschwert wird die Analyse weiterhin durch die zunehmende Kenntnis um den phytohormonellen Kontext, innerhalb dessen sich die Wirkungsweise des einzelnen Hormons abspielt. LEE and SKOOG (1965 a, b) und OVERBEEK (1966) betonen, daß die Phytohormone in Sequenzen wirken und daß die Konzentration eines spezifischen Hormons in der Pflanze keineswegs konstant ist. Cytokinine und Gibberelline sollen in der Anfangsentwicklung dominieren, Auxine später vorherrschend sein. Der Konzentrationsanstieg oder -abfall des einen Hormons bedingt eine Antwort der anderen, so daß sich ein Gleichgewichtszustand einpendelt, der für die Morphogenese der Pflanze wesentlich ist. Die Wirksamkeit dieser komplizierten Regulationsmechanismen im Phytohormonhaushalt tritt besonders deutlich hervor in einer so entscheidenden Periode der Pflanzenentwicklung wie dem Übergang von der vegetativen in die generative Phase, also in der Phase der Blütenbildung, die MOHR (1971) als Kardinalpunkt der Entwicklung bezeichnet. Die Biochemie des unter induktiven Bedingungen entstehenden Blühstimulus ist noch unbekannt.

Durch Besprühen von *squamosa*-Mutanten mit Kinetin wurde die Phänotypie des Normaltyps mit einer Phänotypierate von 31% erreicht. Hier könnte man eine Parallele zu den *in vitro*-Versuchen von NITSCH (1972) an der Langtagpflanze *Arabidopsis thaliana* sehen. Es gelang ihm, an Hypokotylsegmenten von Pflanzen, die im Kurztag aufgewachsen waren, Blütenknospen zu induzieren in einem Medium, das 5×10^{-6} M Kinetin und 10^{-4} M Adenin enthielt. Daß Phytohormone ihre Wirkung über differentielle Genaktivierung ausüben können, ist für Gibberellinsäure erwiesen (VARNER 1964, VARNER and RAM CHANDRA 1964, HESS 1972, LIBBERT 1973). Vielleicht ließe sich in diesem Sinne die Phänotypie des Normaltypus

durch das Besprühen der squamosa-Mutanten mit Gibberellinsäure deuten, das nach dem Zurückschneiden der vergeilten Pflanzen zu einer Phänokopierate von 100% führte. Da Phänokopien vielfach durch unspezifische Noxen ausgelöst werden können, läßt sich nicht mit Sicherheit sagen, ob in den vorliegenden Untersuchungen Kinetin bzw. Gibberellinsäure tatsächlich am squa-Locus angreifen oder ob diese Wachstumsstoffe in periphere Prozesse eingreifen. Die Beteiligung des genetischen Materials an den Vorgängen der Blühinduktion kann dahingehend gedeutet werden, daß in einer Pflanze nach Erreichen des Stadiums der Blühreife während der Induktionsperiode Gene für Blühinduktion aktiv werden, die sich nach BOPP (1971) zunächst in inaktivem Zustand befunden haben. Durch die Überführung dieser im vegetativen Meristem inaktiven Gene in einen aktiven Zustand wird die Blühinduktion als Kippvorgang (LANG 1961, HESS 1972) von der vegetativen zur generativen Entwicklung der Pflanze eingeleitet. Faßt man die Blütenbildung als "normal expression of the plant's genetic programme" (BAXTER 1970) auf, so ist der Blühinduktionsprozeß die Weichenstellung (HESS 1972) in der Entwicklung einer Pflanze.

Das Problem der Phytohormonwirkung, deren genauer Mechanismus bis heute nicht geklärt ist, wird um so komplexer, wenn man bedenkt, daß die Kinetik enzymatischer Prozesse auch vom pH-Wert im Cytoplasma abhängig ist (GALSTON and HILLMAN 1961, SCHRAUDOLF und WEBER 1969, HAGER et. al. 1971) und durch Außenfaktoren wie Licht und Temperatur beeinflusst wird. So können weder Kinetin noch Gibberellinsäure als spezifisch für die Auslösung der Blütenbildung angesehen werden, zumal die Wirkung der Gibberellinsäure in dieser Richtung von der Photoperiodizität der betreffenden Pflanzen abzuhängen scheint. Auch bei der quantitativen Langtagpflanze *Antirrhinum majus* (RÜNGER 1964) werden Wachstum und Blütenbildung weitgehend von der Tageslänge, der Lichtintensität und der Temperatur gesteuert (MAATSCH und RÜNGER 1960, RÜNGER 1961, 1964). Es wäre aufschlußreich zu prüfen, ob die Mutante

squamosa in Dauerlicht den selben Effekt zeigte wie nach Gibberellinbehandlung.

Ein interessanter genetischer Gesichtspunkt ergab sich bei der Auswertung der Sprühversuche. Vor der Zusammenfassung der einzelnen Linien wurde stets ein Homogenitätstest vorgenommen. Dabei stellte sich heraus, daß sich die Linie A z.T. abweichend verhielt und sie deshalb gesondert dargestellt werden mußte. Wie LINNERT (pers. Mitt.) kürzlich fand, handelt es sich bei dieser Linie nicht um eine supprimierte Mutante, sondern um eine Rückmutation von squa nach normal.

Im zweiten Teil der Arbeit sollte versucht werden, Wuchsstoffaktivitäten der verschiedenen Genotypen aufzufinden. Um zu prüfen, ob das lyophilisierte Material für die Untersuchungen tauglich war, wurde zunächst die Auxin-Oxidase-Aktivität bestimmt. Wie die Ergebnisse zeigen, unterscheiden sich die Normalform und die supprimierte Mutante nicht, während sich die Mutante squamosa durch eine deutlich geringere Auxin-Oxidase-Aktivität auszeichnet. Darüberhinaus zeigt die Betrachtung der Einzelwerte einerseits eine sehr geringe Streuung bei den beiden phänotypisch normalen Formen, andererseits eine erstaunlich breite Streuung bei der Mutante. Die Einzelwerte erstrecken sich vom Bereich des Wildtyps bis hin zu geringen Aktivitäten, die den unterschiedlichen Phänotyp der Mutante verständlich erscheinen lassen. Die in den Proben variierenden Werte erklären möglicherweise die stark wechselnde Expressivität des Faktors squamosa - BAUR beschreibt sie schon 1930 -, die von ausgeprägt squamosa bis fast normal reicht, da die Auxin-Oxidase-Aktivität mit der Höhe des Auxinspiegels korreliert zu sein scheint (GALSTON and HILLMAN 1961, ELKINAWY and RAA 1973). In der Tat wurden in den Chromatogrammen der Gesamtextrakte in bestimmten Rf-Bereichen im Weizenkoleoptiltest auch zwei Hemmstoffe gefunden. Da mit den angewandten Methoden IAA und IAN unter UV weder durch Chromatographie

der Gesamtextrakte noch durch Chromatographie der sauren und neutralen Fraktionen nachgewiesen werden konnten, und da außerdem - wie die Kontrollchromatogramme gezeigt haben - eine Hemmung durch IAA und IAN erst bei Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-3} M eintritt, ist nicht anzunehmen, daß diese Hemmstoffe mit IAA und IAN identisch sind. Doch steht fest, daß die Eluate aus den entsprechenden Regionen im Koleoptilttest fast ausnahmslos signifikante Wachstumshemmung zeigten. VOGEL (1964) mahnt zur Vorsicht bei der Interpretation der nach Verwendung alkalischer Laufmittel erzielten Ergebnisse, nachdem er in seinen Untersuchungen feststellen mußte, daß ein von ihm in äthanolischen Extrakten aus Maiskoleoptilspitzen gefundener Wuchsstoff nach Chromatographie mit nichtammoniakalischen Laufmitteln sich als IAA identifizieren lies, bei Verwendung ammoniakalischer Laufmittel Indolderivate jedoch nicht mehr durch Farbreaktionen nachgewiesen werden konnten, obwohl von den entsprechenden Chromatogrammabschnitten eine wachstumsfördernde Wirkung auf die Koleoptilen ausging. Die mit unserem Material vorgenommene Gaschromatographie, eine sehr empfindliche Methode zum Nachweis von Pflanzenhormonen (MANDAVA 1973), ergab ebenfalls keinen Hinweis auf die von BERGFELD (1960) in seinem Antirrhinummaterial der Sippe 50 vermuteten Wuchsstoffe IAA und IAN. Über die Natur der das Wachstum beeinflussenden Substanzen können daher keine Aussagen gemacht werden.

Die quantitative Auswertung der Wachstumsaktivitäten der Extrakte nach chromatographischer Auftrennung der sauren und neutralen Fraktionen führte zu einer differenzierten Beurteilung der Normalform, der Mutante squamosa und der supprimierten Mutante mit Hilfe der Regressionsrechnung und Covarianzanalyse. Die stärksten Wachstumshemmungen gingen aus von den neutralen Fraktionen aus squamosa und normal. Bei dem Vergleich der Covarianzen der neutralen Fraktionen untereinander ergab

sich lediglich eine Signifikanz für den Vergleich supprimiert mit squamosa. Die schwächste Wirkung zeigte die Fraktion normal-sauer, während die Fraktion squamosa-sauer überhaupt keine Aktivität aufwies. Die Kovarianz zwischen supprimiert-sauer und normal-sauer ergab hier ein $P < 0,001$, was darauf hinweist, daß die Wirkung des von LINNERT (1967) durch genetische Untersuchungen nachgewiesenen Suppressorfaktors mit der Wirkung des Normalallels nicht identisch ist. Im vorliegenden Fall kann es sich offenbar nicht um eine intragenische Suppression handeln. Diese Annahme wird gestützt durch die Beobachtung, daß die Aktivität bei squamosa ausschließlich, bei normal überwiegend in der neutralen Fraktion liegt, bei der supprimierten Form hingegen in beiden Fraktionen gleich ist. Für das vorliegende Problem sind demnach die Ergebnisse der Analyse der Wachstumsaktivitäten der Extrakte aus den drei Genotypen nur in den sauren Fraktionen von Bedeutung, da die neutralen Fraktionen ähnliche Regressionsgeraden ergeben (Abb. 6). Aus dem hochsignifikanten Unterschied der Regressionskoeffizienten für normal-sauer und supprimiert-sauer kann man folgern, daß die Supprimierung kaum auf der Wiederherstellung der Auxin-Oxidase-Aktivität allein beruht, da nicht der gleiche physiologische Zustand wieder erreicht wird.

Die Versuchsergebnisse erlauben gewisse Rückschlüsse auf eine pleiotrope Wirkung des squamosa-Locus. Bei der Betrachtung der Chromatographie der Gesamtextrakte (Tab. 14) fallen zwei Regionen als wirksam bezüglich des Koleoptilenwachstums auf: einmal der Rf-Bereich 0,0 bis 0,4, zum anderen der Rf-Bereich 0,6 bis 0,9. Dabei zeigt der Vergleich der Regressionskoeffizienten zwischen der Normalform und der Mutante squamosa signifikante P-Werte für die Kovarianz. Das wird besonders deutlich bei der Betrachtung der Regressionsgeraden für normal 4 und squamosa 4 bzw. normal 8 und squamosa 8 auf der Abb. 5a

bzw. 5c. Die Wirkung des squa-Allels zeichnet sich im Vergleich zur Normalform und zur supprimierten Form einmal durch eine erniedrigte Auxin-Oxidase-Aktivität aus, zum anderen durch zwei unterschiedliche Hemmwirkungen unbekannter stofflicher Komponenten.

5. ZUSAMMENFASSUNG

1. Durch Besprühen von Pflanzen des Normaltypus der Sippe 50 von *Antirrhinum majus* mit IAA + CCC bzw. IAA + IAN vor Anlage der Infloreszenzen konnten Phänokopien der Mutante *squamosa* induziert werden. Besprühen mit IAA + CCC bei Blühbeginn ergab Phänokopien der Mutante *serpentina*.
2. Besprühen von *squamosa*-Pflanzen mit Kinetin vor Anlage der Infloreszenzen führte zur Ausbildung des Normaltypus.
3. Nach Besprühen von 21 phänotypisch normalen und 41 *squamosa*-Pflanzen aus *squamosa*-Linien mit IAA + CCC zeigte sich bei beiden Phänotypen eine signifikante Reduktion der Trieblänge und der Anzahl der Blüten; die Anzahl der Seitentriebe blieb unverändert.
4. Durch Besprühen von je 20 phänotypisch normalen Pflanzen der Linie A mit IAA + CCC bzw. IAA + IAN wurde die Trieblänge signifikant verkürzt, die Anzahl der Blüten jedoch nicht signifikant gesenkt. Die Anzahl der Seitentriebe blieb unverändert. Kinetin beeinflusste keinen der untersuchten Parameter.
5. Die Linien 214, B und C gaben die Möglichkeit zum Vergleich beider Phänotypen nach Behandlung mit IAA + CCC, IAA + IAN bzw. Kinetin. Die Varianzanalyse lieferte hinsichtlich der Trieblänge keinen Unterschied zwischen den Phänotypen, aber Signifikanz hinsichtlich der Art der Behandlung; eine Wechselwirkung konnte nicht nachgewiesen werden. Die Anzahl der Blüten war bei beiden Phänotypen signifikant verschieden, der Einfluß der Behandlung dagegen nicht. Hinsichtlich der Seitentriebe bestand ein signifikanter Unterschied sowohl

zwischen den Phänotypen als auch zwischen den Behandlungsarten. Zwischen Phänotyp und Behandlungsart ergab sich eine Wechselwirkung.

6. Die Bestimmung der Auxin-Oxidase-Aktivität ergab für die Mutante *squamosa* einen deutlich geringeren Durchschnittswert mit einer stark erhöhten Streuung der Einzelwerte im Vergleich zur normalen Kontrolle. Die Auxin-Oxidase-Aktivität der supprimierten Mutante entsprach weitgehend der Normalform.
7. Methanolische Extrakte aus der Normalform, der Mutante *squamosa* und der supprimierten Mutante wurden fraktioniert und chromatographiert. Die Eluate aus den Chromatogrammen wurden dem Weizenkoleoptiltest unterzogen. Alle Extrakte mit Ausnahme der sauren Fraktion des Extrakts aus der Mutante *squamosa* zeigten signifikante Hemmung des Koleoptilenwachstums.
8. Die Prüfung der Extrakte im Koleoptiltest ergab beim Vergleich der sauren Fraktionen eine signifikant stärkere Wachstumshemmung aus der supprimierten Form als aus der Normalform, was darauf hindeutet, daß in der supprimierten Form der normale Phänotyp durch einen anderen Mechanismus hergestellt wird als in der Normalform. Der *squamosa*-Locus besitzt offenbar eine pleiotrope Wirkung.

Literaturverzeichnis

- | | | |
|------------------------------|-------|--|
| BAUR, E. | 1910: | Vererbungs- und Bastardierungsversuche mit Antirrhinum.
Z.indukt.Abstamm.- u.Vererb.-
Lehre <u>3</u> , 34-98 |
| --- | 1918: | Mutationen von Antirrhinum majus.
Z.indukt.Abstamm.- u. Vererb.-
Lehre <u>19</u> , 177-193 |
| --- | 1924: | Untersuchungen über das Wesen,
die Entstehung und die Vererbung
von Rassenunterschieden bei
Antirrhinum majus.
Bibl. genet. (Lpz.) <u>4</u> |
| --- | 1930: | Mutationsauslösung bei
Antirrhinum majus.
Z.f.Bot. <u>23</u> , Festschrift für
OLTMANN, 676-702 |
| --- | 1932: | Die Auslösung von Faktormutationen
durch chemische und physikalische
Reize bei Antirrhinum.
Akademie der Wissenschaften SSSR,
Arbeiten des Laboratoriums für
Genetik, Nr. 9, 163-171 |
| BAXTER, P. | 1970: | The Flowering process - a new
theory. In: CARR, D.J. (ed):
Plant growth Substances 1970.
Proceedings of the 7 th international
conference on plant growth sub-
stances held in Canberra,
Australia, 1970.
Springer, Berlin-Heidelberg-
New York 775-779 |
| BENZER, S.and
S.P. CHAMPE | 1962: | A change from nonsense to sense
in the genetic code.
Proc.nat.Acad.Sci. (Wash.)
<u>48</u> , 1114-1121 |

- BERGFELD, R. 1956: Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an einigen Blütenformmutanten der Sippe 50 von *Antirrhinum majus* L.
Z. induct. Abstamm. - u. Vererb. - Lehre 87, 784-797
- 1958 Mutationsauslösung durch Chemikalien bei *Antirrhinum majus* L.
Z. induct. Abstamm. - u. Vererb. - Lehre 89, 131-142
- 1960: Zur Frage nach der Blütenbildung bei *Antirrhinum majus* mut. sterilis.
Zeitschr. für Botanik 48, 170-181
- BOPP, M. 1971: Entwicklungsphysiologie.
Fortschr. Bot. 33, 148-165
- BRACHET, J. and A. MIRSKY The cell.
Academic Press, New York, V. VI
- COLLET, G., J. DUBOUCHET et P.E. PILET 1964: Etude, par chromatographie sur couche mince, de quelques composés indoliques.
Méthodes et premiers résultats.
Physiol. Veg. 2, 157-194
- COOKE, A.R. 1954: Changes in free auxin content during the photoinduction of short-day plants.
Plant. Physiol. 29, 440-444
- CRAFTS, A.S. 1964: The physiology and biochemistry of herbicides.
In: AUDUS, L.G. (ed): The physiology and biochemistry of herbicides.
Acad. Press, London-New York

- ELKINAWY, M. and J. RAA 1973: Levels of indol-3yl-acetic acid (IAA), IAA-oxidase and peroxidase in developing cucumber seedling.
Physiol. Plant. 29, 250-255
- GALSTON, A.W. and W.S. HILLMAN 1961: The degradation of auxin.
In: RUHLAND, W. (Hrsg.): Handbuch der Pflanzenphysiologie
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg V. XIV, 647-667
- GÄNSHIRT, H. 1967: Quantitative Auswertung von Dünnschicht-Chromatogrammen.
In: STAHL, E.: Dünnschichtchromatographie.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 133-155
- GAREN, A. 1968: Sense and nonsense in the genetic code.
Science 160, 149-159
- GLOOR, H. 1946: Die experimentelle Erzeugung von hormeotischen Modifikationen im Metathorax der Drosophila melanogaster.
Sechster Jahresbericht der Schweizerischen Gesellschaft für Vererbungsforschung 21, 308-311
- 1947: Phaenokopie-Versuche mit Äther an Drosophila.
Rev. suisse Zool. 54, 637-712

- | | | |
|--|-------|---|
| GRUNWALD, C.,
J. MENDEZ and
B.B. STOWE | 1968: | Substrates of the optimum gas chromatographic separation of indolic methyl esters and the resolution of components of methyl 3 - indolepyruvate solutions.

In: WIGHTMAN, F. and G. SETLER-FIELD (ed): Biochemistry and Physiology of Plant Growth Substances. Runge Press, Ottawa, 167-171 |
| GRUNWALD, C.,
M. VENDRELL and
B.B. STOWE | 1967: | Evaluation of gas and other chromatographic separations of indolic methyl esters.

Anal. Biochem. <u>20</u> , 484-494 |
| HADORN, E. | 1955: | Letalfaktoren in ihrer Bedeutung für Erbpathologie und Genphysiologie der Entwicklung.

Thieme, Stuttgart |
| HAGER, A.,
H. MENZEL und
A. KRAUSS | 1971: | Versuche und Hypothese zur Primärwirkung des Auxins beim Streckungswachstum.

Planta (Berl.) <u>100</u> , 47-75 |
| HAMNER, K.C. and
K.K. NANDA | 1956: | A relationship between application of indoleacetic acid and the high - intensity - light reaction of photo-periodism.

Bot. Gaz. <u>118</u> , 13-18 |
| HESS, D. | 1958: | Die Regulatoren des Streckungswachstums bei Streptocarpus Wendlandii Utrecht und ihre Veränderungen während der Blühinduktion.

Planta (Berl.) <u>50</u> , 504-525 |
| --- | 1972: | Pflanzenphysiologie

2. Aufl. Ulmer, Stuttgart |

- | | | |
|-------------------------------|--------|---|
| KAKAR, S.N. | 1963: | Suppressor mutations for the
isoleucine locus in <i>saccharomyces</i> .
Genetics <u>48</u> , 967-979 |
| KALTER, H. and
F.C. FRASER | 1952: | Hereditary differences in the
reaction of mice to the terato-
genic effects of cortisone.
Genetics <u>37</u> , 593 |
| KAPLAN, R.W. | 1968: | Mutation.
Fortschr. Bot. <u>30</u> , 205-224 |
| KARLSON, P. | 1967: | Kurzes Lehrbuch der Biochemie
für Mediziner.
Thieme, Stuttgart |
| KNIPPERS, R. | 1971: | Molekulare Genetik.
Thieme, Stuttgart |
| KUCKUCK, H. und
R. SCHICK | 1930: | Die Erbfaktoren bei Antirrhinum
majus und ihre Bezeichnung.
Z.indukt.Abstamm.- u. Vererb.-
Lehre <u>56</u> , 51-83 |
| KUTSCHER, L. | 1935: | Untersuchungen über Koppelungen
bei Antirrhinum majus.
Z.indukt.Abstamm.- u. Vererb.-
Lehre <u>68</u> , 454-485 |
| LANDAUER, W. | 1947a: | Insulin-induced abnormalities
of beak, extremities and eyes
in chickens.
J.exp.Zool. <u>105</u> , 145-172 |
| --- | 1947b: | Insulin-induced rumplessness
of chickens. V. The effect of
insulin on the axial skeleton
of chicks and adult fowl.
J.exp.Zool. <u>105</u> , 317-328 |

- LANDAUER, W. 1948: Hereditary abnormalities and their chemically-induced phenocopies.
Growth, Symp. 12, 171-200
- 1952: Malformation of chicken embryos produced by boric acid and the probable role of riboflavin in their origin.
J. exp. Zool. 120, 469-508
- 1954: On the chemical produktion of developmental abnormalities and of phenocopies in chicken embryos.
J. Cell. Comp. Physiol. 43, Suppl. 1, 261-305
- LANG, A. 1961: Auxins in flowering.
In: RUHLAND, W. (Hrsg.): Handbuch der Pflanzenphysiologie.
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg V. XIV, 909-945
- LEE, T.T. and F. SKOOG 1965a: Effects of substituted phenols on bud formation and growth of tobacco tissue cultures.
Physiol. Plant. 18, 386-402
- 1965b: Effects of hydroxy benzoic acids on indoleacetic acid inactivation by tobacco callus extracts.
Physiol. Plant. 18, 577-585
- LIBBERT, Eike 1973: Lehrbuch der Pflanzenphysiologie.
Gustav Fischer, Stuttgart
- LINDER, A. 1960: Statistische Methoden.
Birkhäuser, Basel

- LINNERT, G. 1966: Unterschiedliche Mutations-
spektren verschiedener reiner
Linien der Sippe 50 von *Antirrhinum*
majus L. nach gleicher Behandlung
mit Röntgenstrahlen.
Z. Vererb.-Lehre 98, 25-40
- 1967: Die Wirkung von Suppressor-
genen bei der Induktion spezifischer
Mutationen durch Röntgenstrahlen
bei *Antirrhinum majus* L.
Biol. Zbl. 86, (Supplement), 119-126
- 1968: Genetische Analyse eines weiteren
Suppressorgens bei *Antirrhinum*
majus L.
Molec. Gen. 101, 17-28
- LOCKHARD, I. A. and 1954: Effect of darkness and indoleacetic
K. C. HAMNER acid following exposure to short
day on the floral response of
Xanthium, a short-day plant.
Bot. Gaz. 116, 133-142
- MAATSCH, R. und 1960: Saatzeit und Entwicklung von
W. RÜNGER *Antirrhinum*.
Gartenbauwissenschaft 25,
231-235
- MANDAVA, N. 1973: Application of chromatographie
methods in plant hormone research.
Internat. Laboratory, 51-59
- MOHR, H. 1969: Lehrbuch der Pflanzenphysiologie.
Springer, Berlin-Heidelberg-
New York
- 1971: Erbgut und Umwelt.
Biol. unserer Zeit 1, 3-10

- NITSCH, C. 1972: The role of growth regulators in flowering as demonstrated by in vitro techniques.
In: KALDEWEY, H, and Y. VARDAR (ed): Hormonal regulation in plant growth and development.
Verlag Chemie, Weinheim, 413-421
- OVERBEEK, J. van 1966: Plant hormones and regulators.
Science 152, 721-731
- PILET, P.E. 1957: Dosage photolorimétrique de l'acide β indolyl-acétique: application à l'étude des auxines-oxydases.
Rev.gén.Bot. 64, 106-122
- 1958a: Etude chromatographique des facteurs de croissance radiculaires.
C.R.Acad.Sc. 246, 2399-2401
- 1958b: Analyse biochromatographique des auxines radiculaires.
Techniques et résultats.
Rev.gén.Bot. 65, 605-632
- 1961a: Les phytohormones de croissance.
Masson. Paris
- 1961b: L'action des auxines sur la croissance des cellules.
In: RUHLAND, W. (Hrsg.): Handbuch der Pflanzenphysiologie.
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg V. XIV. 784-803
- 1964: Effect of chlorogenic acid on the auxin catabolism and the auxin content of root tissues.
Phytochem. 2, 617-621

- PILET, P.E. 1966: Effect of p-hydroxibenzoic acid on growth, auxin content and auxin catabolism.
Phytochem. 5, 77-82
- 1967: Auxin content and auxin catabolism in relation to the growth polarity.
Physiol. Plant. 20, 285-290
- PILET, P.E. et R. BRAUN 1967: The interrelation of RNA, auxin and auxin-oxidases in lentil roots.
Physiol. Plant. 20, 870-878
- PILET, P.E. et G. COLLET 1964: L'extraction des composés auxiniques.
Zwahlen, Lausanne
- PILET, P.E. et J. DUBOUCHET 1962: Proposition d'un test "Coléoptile" (TRITICUM) pour le dosage auxinique.
Rev. gén. Bot. 69, 545-562
- PILET, P.E. et M. FRAGATA 1966: Séparation, par chromatographie sur silice, du tryptophane et de l'ALA.
Physiol. Vég. 4, 379-387
- PILET, P.E. J. P. ZRYD et P. LAVANCHY 1967: Rôle du pH dans l'analyse de l'activité auxines-oxydasique d'extraits bruts et purifiés.
Physiol. Vég. 5, 327-335
- PILET, P.E. et P. LAVANCHY 1969: Purification d'extraits peroxydasiques (Racine de Lens) à activité "auxines-oxydasique".
Physiol. Vég. 7, 19-29
- RAJAGOPAL, R. and P. LARSEN 1972: Metabolism of indole-3-acetaldehyde, IV, electron acceptor studies and physiological significance of the aldehydeoxidase of avena coleoptiles.
In: CARR, D.J. (ed).: Plant growth substances 1970.

- STEIN, E. 1939: Über einige Pfropfversuche mit erblichen, durch Radiumbestrahlung erzeugten Varianten von *Antirrhinum majus*, *Antirrhinum siculum* und *Solanum lycopersicum*. Biol. Zbl. 59, 59-78
- 1940: Über die Blühfähigkeit von *Antirrhinum siculum* mut. *sterilis*. Biol. Zbl. 60, 166-174
- STUBBE, H. 1935: Weitere Untersuchungen über Samenalter und Genmutabilität bei *Antirrhinum majus*. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre 70, 533-537
- 1966: Genetik und Zytologie von *Antirrhinum L. sect. Antirrhinum*. Gustav Fischer, Jena
- VARNER, J.E. 1964: Gibberellic acid controlled synthesis of α -amylase in barley endosperm. Plant. Physiol. 39, 413
- VARNER, J.E. and G. RAM CHANDRA 1964: Hormonal control of enzyme synthesis in barley endosperm. Proc. Nat. Acad. Sci. 52, 100
- VOGEL, E. 1964: Untersuchungen über das Auxin in Alkoholextrakten aus Mais-koleoptilen. Diplomarbeit, FU Berlin
- WENT, F.W. 1926: Concerning the difference in sensibility of the tip and base of *Avena* to light. Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap, Proc. C. 30, 10

- WHITEHOUSE, H. L. K. 1969: Towards an understanding of
the mechanism of heredity.
Edward Arnold, London
- ZENK, M. 1970: Phytohormone und Genaktivität.
Ber. Dt. Bot. Ges. 83, 325-344

Lebenslauf

Ursula BERNHARDT, geb. Rabenstein

geb.: 29.4.1922 in Würzburg

Vater: akad. Landwirt Friedrich Rabenstein

Mutter: Katinka Rabenstein, geb. Rus, Lehrerin

1939: Abitur an der Städtischen Oberschule für Mädchen, Wiesbaden

1939 - 1940: Arbeitsdienst

1941: landwirtschaftliche Lehrzeit auf Rittergut Dieck in Ostpommern

1942: landwirtschaftliche Lehrzeit auf dem Heeresfohlenaufzuchtshof Gößgraben 12, Trofaiach/Steiermark
Landwirtschaftsprüfung

1942 - 1944: Studium der Landwirtschaft an der Friedrich-Wilhelms-Universität Berlin und der Reichsuniversität Posen

1944 - 1945: Wehrdienst als Heeresbereiterin in der Wehrkreis Reit- und Fahrschule II in Demmin/Vorpommern

1945: Eheschließung mit dem Landwirt Friedrich Bernhardt aus Thüringen, Rittergut Steinhalleben

1946 - 1947: Studium der Landwirtschaft und Diplom an der Landwirtschaftlichen Hochschule Stuttgart-Hohenheim

1948: Geburt des ersten Sohnes in Stuttgart

1949: Geburt des zweiten Sohnes in Frankfurt a/M

- 1953 - 1954: Studium der Landwirtschaft an der
Justus-Liebig-Hochschule Gießen
- 1954: Umzug nach Berlin
- 1958 - 1960: Studium an der Pädagogischen Hochschule
Berlin;
Erste Staatsprüfung für das Amt des Lehrers
- 1961: Scheidung
- 1960 - 1964: Lehrerin an der 9. Grundschule
in Berlin 46, Seydlitzstraße
- 1963: zweite Staatsprüfung für das Amt
des Lehrers
- seit 1964: Tätigkeit in der Didaktik der Biologie
an der Pädagogischen Hochschule Berlin
- 1967: Prüfung für Lehrer mit erweiterter
Fachausbildung an Grund- und Oberschulen
- 1968: Beginn der Experimente zur Dissertation
am Institut für Vererbungs- und Züchtungs-
forschung der Technischen Universität
Berlin, das inzwischen als Institut für
Angewandte Genetik der Freien Universität
eingegliedert wurde.
- 1969 - 1970: Studium der Landwirtschaft an der
Technischen Universität Berlin
- 1970: Ernennung zum Akademischen Rat
- 1971: Ernennung zum Professor.

Für die Stellung des Themas und die Betreuung der Arbeit möchte ich Frau Professor Dr. G. LINNERT meinen herzlichen Dank aussprechen. Ferner danke ich Herrn Professor Dr. P. E. PILET, Lausanne, für die Überlassung eines Arbeitsplatzes und zahlreiche Diskussionen sowie den Mitarbeitern des Institutes für stete Hilfsbereitschaft. Herrn Professor Dr. H. FENNER verdanke ich wertvolle Ratschläge für die Dünnschichtchromatographie, Herrn Professor Dr. H. J. BELITZ für die statistische Auswertung. Nicht zuletzt gilt mein Dank der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT, die durch ihre finanzielle Unterstützung die Durchführung dieser Arbeit ermöglicht hat.

